



UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE

FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA

Le bande di contrazione possono essere un marker di danno cardiaco?

Candidato:
Caterina Pesaresi

Relatore:
Prof. Chiar.mo Mauro Pesaresi

Anno Accademico 2021-2022



UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE

FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA

Le bande di contrazione possono essere un marker di danno cardiaco?

Candidato:
Caterina Pesaresi

Relatore:
Prof. Chiar.mo Mauro Pesaresi

Anno Accademico 2021-2022

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA
Via Tronto 10/a, Torrette 60126, Ancona (AN), Italy

Indice

1	Introduzione	1
2	Anatomia funzionale del miocardiocita	3
2.1	Miocardiociti: struttura morfo-funzionale	3
2.2	Fisiologia della contrazione	4
3	La necrosi a bande di contrazione	6
3.1	Sinonimi	6
3.2	Tipi di necrosi miocardica	6
3.3	Caratteristiche della necrosi a banda di contrazione	7
3.4	Connessione cuore-cervello	9
3.4.1	Condizioni predisponenti	15
3.4.2	Conclusioni sulla fisiopatologia	16
4	Cardiotossicità da catecolammine	18
4.1	Tossicità da acidi grassi liberi	18
4.2	Tossicità da aggregazione piastrinica	19
4.3	Ipotesi dell'ipercontrazione	19
4.4	Danno diretto al miocardio	20
4.5	Calcium overload	20
4.6	Vasocostrizione coronarica	21
4.7	Radicali liberi	21
4.8	Danno mitocondriale	23
4.9	Teoria unificante	24
5	CBN o artefatto?	26
6	Utilità delle bande di contrazione in ambito forense	29

Indice

7	Immunoistochimica	31
8	Precipitazione	34
9	Carbonizzazione	37
10	Studio sperimentale	42
10.1	Razionale dello studio	42
10.2	Preparazioni istologiche	43
10.3	Criteri di inclusione ed esclusione	44
10.4	Materiali e metodi	45
10.5	Risultati	50
10.5.1	Casi carbonizzati	53
10.5.2	Casi con eccesso di catecolamine	57
10.5.3	Casi precipitati	62
11	Discussione	68
12	Conclusioni	73

Elenco delle figure

3.1	L'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, il picco di catecolamine e la regolazione simpatica e parasimpatica mediano la disfunzione cardiaca dopo l'ictus . . .	14
3.2	Cardiopatía indotta da stress	17
4.1	Formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS). Abbreviazioni: 1e, un elettrone; 2e, due elettroni; BH4, tetraidrobiopterina; Cl-, anione cloruro; Fe2+, ferro ferroso; H+, catione idrogeno; Tiro, tirosina.	23
4.2	Meccanismi di cardiotossicità indotta da catecolamine.	25
5.1	Esempi di lesioni a banda di contrazione	27
5.2	Artefatti	28
5.3	Necrosi	28
7.1	The Classification Scheme	33
10.1	Caso 122/14, Artefatto da carbonizzazione	54
10.3	Caso 170/11, Artefatto da calore	55
10.4	Caso 170/11, Artefatto da calore	56
10.5	Caso 67/10, Artefatto da calore o CB?	56
10.6	Bande di contrazione in soggetto in terapia con adrenalina	57
10.7	Bande di contrazione in caso di infarto miocardico acuto	58
10.8	CB in soggetto precipitato da un aereo	63
10.9	CB in soggetto precipitato da parapendio	64
10.10	CB in soggetto precipitato da 120 metri	64
10.11	CB in precipitazione suicidiaria	65
10.12	Caso 65/12, Bande dubbie	66
10.13	Caso 65/12, Bande dubbie	66

Elenco delle figure

10.14CB in soggetto precipitato da albero 67

Elenco delle tabelle

10.1	Profilo dei Casi	45
10.2	Risultati	50
10.3	Riassunto dei risultati	53

Capitolo 1

Introduzione

Le bande di contrazione sono delle lesioni che si possono individuare nelle preparazioni istologiche di cuore di soggetti morti in condizioni di stress catecolaminergico.

Queste lesioni si formano a seguito di una morte "tetanica" del miocardiocita, poichè le cellule si arrestano in contrazione irreversibile, in cui i sarcomeri diventano ipercontratti, con conseguente deposito dei filamenti spessi e sottili in una zona a forma di banda, che appare trasversale alla lunghezza della fibra cardiaca ed ipereosinofila, alternata a bande chiare.

In dettaglio, le bande di contrazione possono essere prodotte in condizioni di eccesso di catecolamine esogene, come terapia iatrogena, o endogene, conseguenti all'attivazione del sistema ortosimpatico in condizioni di stress emotivo o fisico, ad esempio in casi di infarto cardiaco, shock, morti agoniche, minacce armate etc . . .

Viste le numerose situazioni in cui queste lesioni si possono formare, le bande di contrazione rappresentano un reperto estremamente frequente nelle preparazioni istologiche di cuori che possono essere analizzate durante i riscontri diagnostici o autopsie giudiziarie in Medicina Legale e Anatomia Patologica; tuttavia, nonostante questa concreta rilevanza, il loro utilizzo per le considerazioni pratiche è assai scarso.

Le motivazioni dello scarso utilizzo delle bande di contrazione nella pratica clinica sono rappresentate dall'estrema difficoltà nel riuscire a distinguerle da artefatti che possono manifestarsi sempre con bande chiare e scure alternate.

L'obbiettivo di questo studio è proprio quello di cercare di distinguere le vere bande di contrazione dalle bande artefattuali.

Lo studio è stato realizzato andando ad individuare le bande eosinofile alternate a bande chiare che possono essere presenti nei soggetti morti per precipitazione, confrontandole, dal punto di vista qualitativo, con le stesse lesioni a bande presenti in soggetti la cui morte è

Capitolo 1 Introduzione

nota per formare artefatti a forma di banda, cioè la carbonizzazione, e in soggetti morti in condizioni nota di eccesso di catecolamine, in cui ci aspettiamo di trovare le vere bande di contrazione.

In tal modo, nel caso in cui si riuscirà a distinguere i due tipi di lesioni, si potranno usare i risultati per comprendere se, come dice il titolo, " le bande di contrazione possono essere un marker di danno cardiaco", ed eventualmente utilizzarle per fare delle considerazioni nella pratica clinica.

Capitolo 2

Anatomia funzionale del miocardiocita

2.1 Miocardiociti: struttura morfo-funzionale

I miocardiociti, o cardiomiociti, sono cellule del muscolo cardiaco con capacità contrattile che formano un sincizio funzionale in grado di garantire un ciclo ritmico di contrazione-rilasciamento tipico del cuore. I miocardiociti, sono cellule di forma cilindrica, della lunghezza di 80-100 micrometri e dello spessore di 10-20 micrometri, delimitati da una membrana, detta sarcolemma, al cui interno sono presenti il nucleo, in posizione centrale, mitocondri, numerosi granuli di glicogeno, il reticolo sarcoplasmatico e tante proteine contrattili. [1]

L'organizzazione delle proteine contrattili è uguale a quella delle cellule muscolari scheletriche ed è proprio la disposizione di queste proteine a dar origine a differenze di densità responsabili delle striature trasversali a bande chiare e scure alternate, evidenziabili nelle comuni sezioni istologiche.

Analizzando il miocardiocita al microscopio elettronico si può comprendere come la banda chiara detta "A" e la banda scura detta "I" siano interrotte al loro interno da ulteriori regioni a densità diversa.

In dettaglio, la banda I è divisa a metà da una linea densa, la linea Z, detta anche disco Z, mentre la banda A è suddivisa a metà da una regione di minor densità, o più chiara, chiamata banda H. Inoltre la banda H è suddivisa a sua volta a metà da una sottile linea chiamata linea M.

La porzione di fibra muscolare compresa tra due linee Z è detta sarcomero, e corrisponde all'unità contrattile di base del muscolo striato, scheletrico e cardiaco. [2]

Capitolo 2 Anatomia funzionale del miocardiocita

Le proteine contrattili coinvolte in questa organizzazione così precisa sono distinte in filamenti sottili, composti prevalentemente da actina, presente nella sua forma polimerizzata e accoppiata a proteine regolatorie, tra cui ricordiamo la tropomiosina e il complesso della troponina; e filamenti spessi, composti principalmente da miosina, formata da 2 catene polipeptidiche pesanti costituite da una "testa" e una "coda", e 4 catene polipeptidiche leggere.

L'organizzazione di queste proteine nel sarcomero prevede che i filamenti spessi di miosina si trovino solo nella porzione centrale, cioè nella banda A. I filamenti sottili di actina sono attaccati alla linea Z e si estendono nella banda A fino al margine della banda H. Le porzioni contigue di due sarcomeri che si trovano ai due lati della linea Z costituiscono la banda I e contengono solo filamenti sottili. Nella sezione longitudinale di un sarcomero, la linea Z, attraversata al centro dalla matrice Z, ha l'aspetto di una struttura a zig zag.

La linea Z e il materiale che la compone ancorano i filamenti sottili dei due sarcomeri adiacenti agli angoli dello zig zag, tramite l'alfa actinina, una proteina che lega l'actina. La matrice Z, include una varietà di proteine (per esempio teletonina, talina, desmina, miomotilina, filamina C) che ancorano la linea Z alle miofibrille contigue e alla membrana cellulare adiacente.[2]

Interposte tra i filamenti sottili e spessi, si trovano altre proteine che sono coinvolte direttamente nell'attività contrattile poichè permettono ai filamenti sottili di scivolare su quelli spessi in maniera ordinata, garantendo così l'accorciamento della cellula e quindi la contrazione muscolare.

2.2 Fisiologia della contrazione

La contrazione della fibra muscolare cardiaca inizia quando la depolarizzazione della membrana cellulare lungo la fibra di Purkinje raggiunge la sua destinazione sui cardiomiociti.

In dettaglio, la regolazione della contrazione coinvolge il Calcio (Ca^{+2}) e una precisa organizzazione del sarcolemma e del reticolo sarcoplasmatico a livello dei sarcomeri.

Infatti, il reticolo sarcoplasmatico, che è l'organo cellulare di deposito di ioni calcio (Ca^{+2}), è organizzato in un singolo reticolato lungo il sarcomero tra due linee Z, mentre la membrana sarcoplasmatica si invagina tra i sarcomeri a livello delle linee Z, formando dei tubuli detti "tubuli T".

Capitolo 2 Anatomia funzionale del miocardiocita

In questo modo la depolarizzazione della membrana si continua a livello dei tubuli T permettendo l'attivazione di alcune proteine ivi localizzate sensibili alle variazioni del voltaggio (voltage-sensitive protein, DHSR), garantendo un ingresso minimo di Ca^{+2} .

L'aumento dell'ingresso di Ca^{+2} non è in grado di far iniziare una contrazione muscolare ma permette l'apertura dei recettori rianodinici isoforma Ryr2 che corrispondono a dei canali per il rilascio di altro Ca^{+2} presenti nelle cisterne del reticolo sarcoplasmatico.

In questo modo una massiva quantità di Ca^{+2} diffonde tra i miofilamenti, dove lega una delle proteine presenti nel filamento sottile, la componente C del complesso della troponina, garantendo l'inizio del ciclo dei ponti trasversali.

Il ciclo dei ponti trasversali è una serie di eventi biochimici e meccanici accoppiati che garantisce lo scorrimento dei filamenti contrattili permettendo di accorciare il sarcomero.

Nel muscolo a riposo l'interazione dei filamenti sottili con quelli spessi è impedito dalla tropomiosina, una proteina che maschera i siti del legame della miosina sulle molecole di actina.

In seguito alla liberazione di Ca^{+2} , quest'ultimo si lega alla tropomiosina in modo da esporre questi siti di legame per la miosina. Una volta che i siti di legame sono esposti l'actina si lega alla miosina andando a formare un ponte trasversale; poi, utilizzando ATP, i due filamenti possono scorrere l'uno sull'altro, accorciando il sarcomero e garantendo la contrazione muscolare.

La contrazione simultanea e coordinata delle cellule cardiache è garantita dai dischi intercalari, che rappresentano i siti di attacco altamente specializzati tra due cellule adiacenti.

Quando la zona del disco intercalare viene esaminata al microscopio ottico, essa appare come una banda trasversale densamente colorata, orientata in maniera lineare o "a gradini di una scala". Questi dischi intercalari contengono delle giunzioni specializzate cellula-cellula tra cui ricordiamo la fascia adherens, che tiene unite le cellule tra loro; i desmosomi, che legano le singole cellule l'una all'altra per evitare che si stacchino a causa dello stress dello stiramento dovuto alle contrazioni regolari ripetute; e le gap junction, che forniscono una continuità ionica tra le cellule, permettendo alle fibre muscolari cardiache di comportarsi come un sincizio, mantenendo allo stesso tempo integrità ed individualità cellulari. [2]

Capitolo 3

La necrosi a bande di contrazione

3.1 Sinonimi

La necrosi a banda di contrazione (CBN) è anche chiamata come microinfarto, infarto-simile, miocitolisi focale, necrosi di Zenker, miocitolisi coagulativa, degenerazione miofibrillare, miocardite focale, o necrosi catecolaminergica.

3.2 Tipi di necrosi miocardica

La necrosi a bande di contrazione (CBN) è un tipo di pattern di necrosi del miocardiocita.

Il danno irreversibile delle cellule del miocardio può presentare aspetti morfologici differenti in relazione al tipo di disfunzione del ciclo di contrazione-rilassamento.

Quando le fibre muscolari si interrompono in un rilassamento irreversibile si parla di morte "atonica" o "necrosi da coagulazione" (anche se la coagulazione non si verifica mai). In questo tipo di morte istologica c'è un aumento della lunghezza dei sarcomeri e dei nuclei dovuto all'azione della pressione intraventricolare e alla paralisi flaccida delle cellule del miocardio. [3]

La lesione è patognomica dell'infarto cardiaco con tutte le sue sequele, ovvero un'infiltrazione dei leucociti polimorfonucleari dopo 6-8 ore che permangono per un massimo di 5 giorni, con successiva rimozione del tessuto necrotico e sostituzione con collagene.

Nella necrosi a bande di contrazione, invece, si riscontra un pattern morfologico opposto e completamente diverso. La morte cellulare viene detta "tetanica" poichè le cellule del miocardio si arrestano in contrazione irreversibile [4] in cui i sarcomeri diventano ipercontratti, estremamente corti con linee Z altamente ispessite, con conseguente deposito dei filamenti

spessi e sottili in una zona a forma di banda, che appare trasversale alla lunghezza della fibra cardiaca ed ipereosinofila. [5]

Il sarcolemma viene preservato e penetrato da macrofagi che digeriscono il materiale necrotico portando ad un pattern alveolare formato da tubuli sarcolemmali vuoti. Segue una fase di guarigione con progressiva collagenizzazione e fibrosi. Questi cambiamenti suggeriscono che la contrazione meccanica del miocardio sano circostante possa provocare la rottura di questi elementi rigidi con portando quindi a morte la cellula. [3]

Le lesione a banda di contrazione sono plurifocali con focolai formati da una o poche migliaia di cellule ed è la necrosi tipica ottenuta sperimentalmente per infusione di catecolamine e presente nel miocardio di pazienti con feocromocitoma. [6] E' importante sottolineare che in queste condizioni sperimentali o umane di eccesso di catecolamine non si osserva necrosi infartuale.[7]

Infine, il terzo tipo di danno miocardico è definito "miocitolisi colliquativa" e si osserva nelle sindromi a basso output in cui le principali alterazioni strutturali sono l'aumento della vacuolizzazione edematosa e la scomparsa delle miofibrille [4].

3.3 Caratteristiche della necrosi a banda di contrazione

Come già accennato, la CBN è così chiamata perchè le aggregazioni di filamenti contrattili si dispongono a bande trasversali ed eosinofile alle normali preparazioni istologiche colorate con ematossilina ed eosina.

In realtà queste bande di contrazione sono molto più facili da identificare utilizzando speciali coloranti istochimici, come la tricromica di Masson o di Gomori,[8] Luxol fast blue, [9] ematossilina dell'acido fosfotungstico di Mallory, [10] ed ematossilina del ferro di Heidenhain.

La visualizzazione di queste strutture al microscopio è nota da diversi decenni, anche se per molti anni sono state chiamate con termini sinonimi. Nel 1904, Smith le descrisse al confine del territorio infartuato, e negli anni successivi si susseguirono molte definizioni differenti ma senza ipotizzare alcuna causa per la formazione di questo tipo di lesione.

Nel 1957 Saram descrisse un disgregamento delle miofibrille in cellule miocardiche ai margini di una zona infartuata.[11]

Capitolo 3 La necrosi a bande di contrazione

Nel 1959 Caulfield e Kliensky introdussero per la prima volta il termine "bande di contrazione" però per riferirsi all'ispessimento delle bande Z identificate nel miocardio di un coniglio sottoposto a 20 minuti di legatura coronarica. [12].

Tuttavia, quelli che associarono le bande di contrazione alla necrosi cellulare furono Jennings et al. che, tramite uno studio specifico, notarono come queste bande potessero essere riprodotte in casi di ischemia e riperfusione. [13]

Successivamente, nel 1975 Baroldi riprendendo il lavoro di Saram, precisò che questa lesione era limitata agli strati miocardici subendocardici e perivasali, che normalmente sono preservati dalla necrosi dell'infarto. [3]

Le bande di contrazione vengono così associate ad un tipo di morte cellulare osservata sempre nella zona esterna di un infarto precoce e nel miocardio normale circostante, in qualsiasi fase del processo di riparazione della maggior parte degli infarti acuti e nella maggior parte dei casi di morte improvvisa [14].

A contrasto con questa "teoria ischemica" per la formazione delle bande di contrazione, nel 1985 Todd e Baroldi riuscirono a riprodurle in laboratorio infondendo catecolammine ad animali. Per l'esperimento è stato utilizzato l'isoproterenolo (ISO), un agonista -adrenergico, attualmente ampiamente usato come modello per produrre infarto miocardico nei ratti o altri animali, per la sua straordinaria semplicità tecnica, riproducibilità e mortalità accettabilmente bassa. [15]

I due autori infusero dosi crescenti di isoproterenolo endovena in alcuni cani e noradrenalina a dose nota in altri, per poi andare a classificare e quantificare le lesioni a banda di contrazione che venivano identificate nei preparati istologici di campioni del miocardio. I due autori notarono che queste due catecolammine provocano una cardiotossicità simile, nonostante le loro diversità emodinamiche, con evidenti lesioni a banda di contrazione che comparivano entro 5-10 minuti dall'infusione, non correlate all'ischemia e con estensione dipendente dalla dose somministrata e sempre plurifocali. [16]

Da questo esperimento si iniziò a delineare l'idea che le CBN fossero caratteristiche dell'eccesso delle catecolammine e la presenza di queste lesioni in corso di infarto miocardico acuto era dunque da imputare ad un massivo rilascio di adrenalina/noradrenalina come risposta riflessa all'asinergia della zona infartuata.

Questa idea è stata rafforzata dall'assenza delle stesse lesioni in cani sottoposti a legatura coronarica ma pretrattati con beta bloccanti (propranololo). [17]

Seguirono, così, altri studi che descrissero questo tipo di necrosi in condizioni come feocromocitoma [18] e intossicazione di vari tipi di droga quali ecstasy e cocaina [19] [20] [20], generalmente note per la loro attività simpatico-mimetica.

Successivamente, a causa di questa maggiore attenzione alle bande di contrazione, molti autori iniziarono ad identificarle e a descriverle anche in alte situazioni, apparentemente non correlate con l'eccesso di catecolammine come: tentativi di rianimazione [21], annegamento [22], emorragia intracranica [23], asma [24], stato epilettico [25], intossicazione da CO (anche se con pareri contrastanti) [26], shock settico [27] ma anche in situazioni come sindrome di Brugada [28], cuore trapiantato [29], folgorazione [30], sindrome di Prader-Willi [31], precipitazione e carbonizzazione [32], cisti colloidali del III ventricolo [33], sindrome di Takostubo [34] e AIDS [26], vittime di aggressioni omicide, [35] impiccagione [35], tecniche di ablazione cardiaca [36] [37], morte cardiaca improvvisa del neonato [38] e defibrillazione [39].

Tutte queste situazioni differenti, se analizzate nei singoli casi, possono essere ricondotte all'interno della teoria catecolaminergica, che sostiene, appunto, che le CBN si formino in condizioni che portano ad un'iperattivazione dell'ortosimpatico.

Per comprendere la correlazione di molte di queste condizioni, apparentemente slegate dalla presenza di catecolammine, è necessario citare la teoria della connessione cuore-cervello.

3.4 Connessione cuore-cervello

Nel 1942 Walter B. Cannon pubblicò un articolo intitolato "Voodoo Death" in gran parte noto come morte per paura. [40] Cannon sostenne che, in circostanze speciali che coinvolgono stress sociale e psicologico, la morte può verificarsi per paura in una persona altrimenti sana. Nel suo articolo raccontava esperienze aneddotiche, tratte dalla letteratura antropologica di tutto il mondo, tutte caratterizzate da una convinzione che una forza esterna come uno stregone o un mago, potesse, con la sua volontà, causare la morte, e che la vittima stessa non avesse il potere di alterare questo corso. Questa mancanza di controllo su una potente forza esterna veniva interpretato dall'autore con un'intensa attivazione del sistema ortosimpatico. Cannon credeva che questo fenomeno fosse limitato alle società in cui le persone erano così superstiziose e ignoranti la cui immaginazione era tale da influenzare

Capitolo 3 La necrosi a bande di contrazione

completamente le loro vite, con la conseguente iperattivazione del simpatico che poteva portarle a morte. [40] [41] Nel corso degli anni si sono accumulate prove a sostegno del concetto di Voodoo death, che appariva effettivamente reale, ma era lungi dall'essere limitato ai popoli antichi, dal momento che casi di morti improvvise in soggetti apparentemente sani si trovavano anche nella società moderna.

Quindi la teoria di Cannon, cioè che la morte improvvisa originasse da un'iperattivazione del sistema ortosimpatico, con una conseguente connessione tra sistema nervoso e cuore, divenne il punto iniziale di tutti gli studi che cercarono di comprenderne il meccanismo fisiopatologico.

Nel 1957, Curt Richter, un ex studente di Cannon, fece una serie di esperimenti volti a chiarire il meccanismo della morte "voodoo". L'autore perseguì la scoperta accidentale di un'epidemia di morte improvvisa in una colonia di roditori, che fu indotta quando un suo collega tagliò i baffi degli animali per prevenire la contaminazione della raccolta delle urine. Tagliare i baffi dei topi è una procedura che distrugge il loro meccanismo propriocettivo più importante tale da esacerbare la tendenza alla morte improvvisa. Gli ECG presi durante il processo mostrarono lo sviluppo di una bradicardia prima della morte e la surrenectomia non protesse gli animali. Inoltre, l'atropina sembrò proteggere alcuni animali e i farmaci colinergici portarono a una scomparsa ancora più rapida. Tutto ciò è stato preso come prova che l'iperattività del sistema nervoso simpatico non era la causa della morte, ma piuttosto era causata da un aumento del tono vagale.[42]

Ora crediamo che le conclusioni apparentemente opposte di Cannon e Richter non si escludano a vicenda, ma piuttosto che una tempesta autonoma generalizzata, che si verifica a seguito di un fattore di stress pericoloso per la vita, avrà effetti sia simpatici che parasimpatici. La predominanza dell'uno sull'altro dipende dal parametro misurato e dalla tempistica delle osservazioni in relazione al fattore di stress (es. gli eventi precoci tendono ad essere dominati da effetti simpatici, mentre gli eventi tardivi da quelli parasimpatici). [43]

Hans Selye fu il primo a dimostrare che fattori di stress e concentrazioni elevate di ormoni potessero produrre lesioni cardiache negli animali. In questo studio, a supporto della teoria catecolaminergica, è sempre stata descritta la CBN, con lesioni multifocali e localizzazione preponderantemente subendocardica, corrispondente alla distribuzione delle terminazioni nervose simpatiche. [41]

La disfunzione cardiaca dopo attivazione di meccanismi neurologici che portano ad un

Capitolo 3 *La necrosi a bande di contrazione*

eccesso di catecolamine è attualmente definita come miocardio stordito neurogenico (NSM). [44]

A sostegno di questa ipotesi sono state evidenziate le CBN in soggetti vittime di aggressioni senza lesioni interne e in vittime di omicidi (condizioni caratterizzate da profondo stress emotivo), ma anche in soggetti depressi o con perdita della speranza di vita [41].

Ampi studi basati sulla popolazione hanno dimostrato un aumento della morte improvvisa e dell'infarto miocardico a seguito di eventi emotivamente traumatici come terremoti, atti di terrorismo e persino eventi sportivi. [45]

Molto più in generale, le situazioni stressanti per l'organismo comprendono tutte le situazioni agoniche come ipotermia, impiccagioni o annegamenti, overdose [46] e situazioni di stress fisico come la sepsi [47].

Ci sono prove considerevoli che suggeriscono che una maggiore stimolazione simpatica derivante da questi trigger emotivi acuti possa far precipitare un infarto miocardico e portare a morte improvvisa attraverso una varietà di meccanismi fisiopatologici che includono vasocostrizione coronarica, rottura acuta della placca e instabilità elettrica. [45]

Wittstein et al hanno descritto il decorso dei risultati ecocardiografici in 19 pazienti con disfunzione cardiaca dopo un fattore di stress emotivo acuto, che si è rapidamente risolto in tutti i pazienti. In questo studio, sono stati documentati elevati livelli plasmatici di catecolamine; inoltre, i risultati istologici su campioni di biopsia miocardica erano coerenti con le CBN, suggerendo un'eccessiva stimolazione simpatica come possibile meccanismo alla base dei sintomi clinici osservati.

Anche la profonda angoscia che deriva dal lutto può sostenere un'eccessiva stimolazione simpatica del miocardio. Infatti, storie aneddotiche legate alla morte indotta dalle emozioni sono state descritte per centinaia di anni. Il termine "cuore spezzato" è stato usato in circostanze in cui le esperienze di vita potevano diventare in grado di causare la morte cardiaca improvvisa (Sudden Cardiac Death- SCD). Nel 1967, Rees e Lutkins riferirono di un significativo aumento dei tassi di mortalità tra i parenti dopo che si era verificato un lutto in comune. [48] La SCD è definita come una morte inaspettata dovuta a cause cardiache che si verifica in un ristretto intervallo di tempo (generalmente entro la prima ora dalla comparsa dei sintomi) in un soggetto portatore di patologia cardiaca nota o misconosciuta, magari associata a qualche evento stressante.

Nella maggior parte degli arresti cardiaci improvvisi che si verificano in pazienti con

Capitolo 3 *La necrosi a bande di contrazione*

alterazioni strutturali cardiache sono evidenziabili caratteristiche morfologiche compatibili con un IMA o con un rimodellamento post-infartuale. In una percentuale minore di casi di SCD si riscontrano alterazioni cardiache di origine non ischemica; tra queste abbiamo la cardiomiopatie (ipertrofica e dilatativa) e la displasia aritmogena del ventricolo destro o mutazioni di specifici geni (soprattutto di canali ionici). In tutte le patologie menzionate, l'evento terminale è rappresentato da un'aritmia cardiaca che determina la perdita della funzione di pompa cardiaca. Le aritmie possono essere causate da un'alterazione della conduzione dell'impulso elettrico o della contrazione delle fibre miocardiche.

Un particolare tipo di cardiopatia che può essere una causa di SCD è la cardiopatia da stress, o sindrome di Takostubo. Tale patologia è una sindrome miocardica acuta, caratterizzata da sintomi toracici ischemici, elevazione del tratto ST all'elettrocardiogramma e elevazione (medio-alta) degli enzimi cardiaci e dei biomarcatori. L'ischemia induce una disfunzione contrattile reversibile tipicamente dei segmenti medi e apicali del ventricolo sinistro, associata ad ipercinesia compensatoria dei segmenti basali con caratteristica modificazione "balloniforme" o "a cestello di polipo" (dal giapponese Takostubo) del ventricolo sinistro.

E' ormai noto che la sindrome di Takostubo precipiti per un trigger emotivo o fisico acuto nella maggior parte dei casi segnalati. I fattori scatenanti emotivi più comuni sembrano essere il dolore, spesso a causa della morte di una persona cara, o la paura (derubato sotto la minaccia delle armi, incidente automobilistico). Anche fattori di stress fisico possono essere implicati, tra cui emergenze respiratorie (esacerbazione dell'asma, compromissione delle vie aeree, pneumotorace), procedure chirurgiche, insulti metabolici (ipoglicemia), squilibri emodinamici (sanguinamento gastrointestinale ipotensivo). [45]

Contrariamente a quanto possa sembrare, la prognosi complessiva per la cardiomiopatia indotta da stress, senza alcuna forma di trattamento, è buona, a condizione che il paziente sopravviva al periodo di insufficienza cardiaca grave. In effetti, la reversibilità della disfunzione ventricolare sinistra è un segno distintivo della sindrome. Tuttavia, i tassi di mortalità variano dallo 0% all'8%. L'insufficienza cardiaca sinistra con e senza edema polmonare è la complicanza più frequentemente riportata. Raramente, sono stati riportati shock cardiogeno, aritmie ventricolari, trombo murale ventricolare sinistro, embolia polmonare disfunzione della valvola mitrale e rottura ventricolare sinistra. I tassi di mortalità ospedaliera hanno oscillato dallo 0% all'8% e la mortalità è stata dell'1% nella più grande serie di 88 pazienti

Capitolo 3 La necrosi a bande di contrazione

in Giappone. I pazienti che sopravvivono all'episodio acuto in genere recuperano la normale funzione ventricolare entro 1-4 settimane. La morte improvvisa tardiva e la malattia ricorrente si sono verificate in pazienti occasionali. [49]

In realtà non sono solamente stimoli fisici ed emotivi a poter scatenare una risposta adrenergica.

Lo testimoniano tanti studi su alcune malattie intracraniche come le emorragie cerebrali, ictus, traumi cranici ed epilessia. [48] Nel 1970, sono state fornite chiare prove sperimentali che le lesioni cardiache potessero essere prodotte a causa di un danno al sistema nervoso.

Una serie di esperimenti di Oppenheimer e Cechetto hanno aiutato a mappare le aree del cervello per capire quali zone fossero maggiormente responsabili degli effetti autonomici. Gli autori definirono il ruolo centrale della corteccia insulare sia nel controllo della funzione cardiovascolare che nella modulazione del sistema nervoso autonomo. [50] [51]

Le aree maggiormente coinvolte sono quelle del sistema limbico, in particolare l'amigdala e l'ippocampo, che rappresentano le principali aree cerebrali implicate nell'emozione e nella memoria e che quindi possono essere eccitate durante uno stress emotivo e fisico. Queste aree svolgono anche un ruolo centrale nel controllo della funzione cardiovascolare, per cui la loro eccitazione provoca la stimolazione del centro autonomo midollare e quindi dei neuroni pre- e post-sinaptici che portano alla liberazione di noradrenalina. Contemporaneamente, l'attivazione dell'asse ipotalamo-surrene permette il rilascio di epinefrina dalla midollare surrenalica. L'epinefrina e la noradrenalina, rilasciata dai nervi simpatici cardiaci ed extracardiaci, raggiungono i loro recettori a livello del miocardio e dei vasi sanguigni con possibilità di formare le lesioni di necrosi a banda di contrazione. [52]

Questo significa che quando si verifica una lesione encefalica come un ictus o un'emorragia a livello delle regioni insulari e sottocorticali del cervello si ha un aumento del tono simpatico-surrenale che si traduce in una complessa cascata di rilascio di catecolamine, disfunzione autonoma e neuroinfiammazione, come si può osservare in figura 3.1.

Il risultato finale della tempesta di catecolamine a livello del miocardio è la disfunzione mitocondriale e la morte cellulare con il conseguente ritrovamento istologico classico della necrosi della banda di contrazione.

A conferma di questa teoria, il propranololo, un antagonista dei beta-adrenocettori, ha mostrato effetti cardioprotettivi nei pazienti con emorragia subaracnoidea. [48] [53]

La posizione della lesione cerebrale è fondamentale per determinare o meno una disfun-

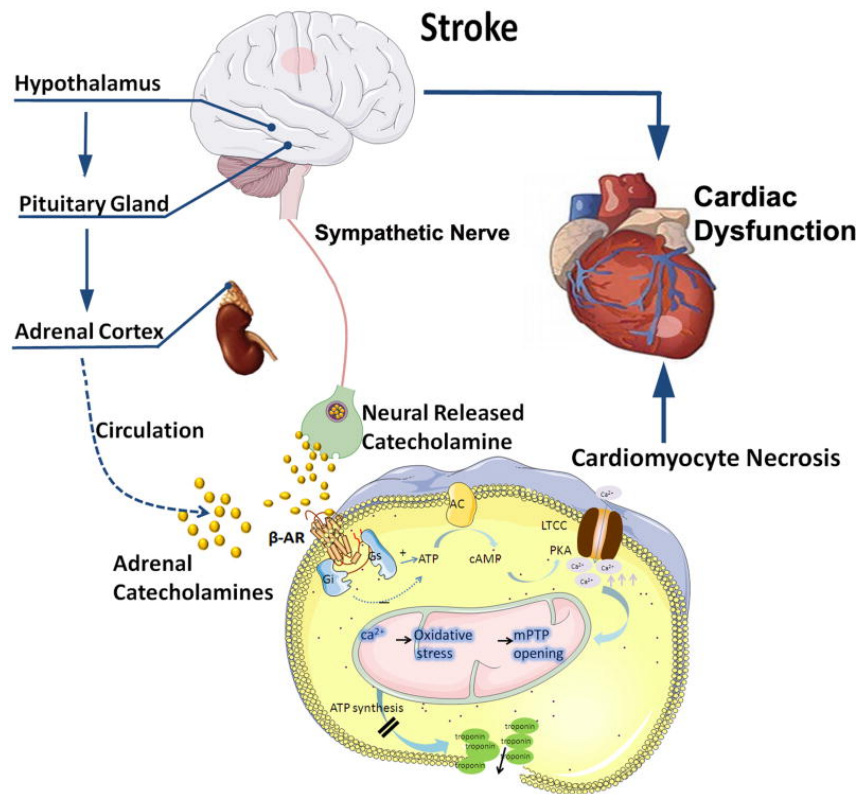


Figura 3.1: L'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, il picco di catecolamine e la regolazione simpatica e parasimpatica mediano la disfunzione cardiaca dopo l'ictus [53]

zione cardiaca: sembra che l'emisfero destro controlli principalmente l'attività simpatica, mentre il sinistro quella parasimpatica. [54] Pertanto, una lesione insulare destra diminuisce il tono simpatico e si traduce in un aumento del tono parasimpatico. Le lesioni insulari destre sono associate ad una maggiore mortalità in una fase precoce rispetto ad altre sedi. Il coinvolgimento dell'emisfero sinistro è associato ad una minore incidenza di aritmie, un aumentato rischio di esito cardiaco avverso, un aumento della mortalità a lungo termine e una diminuzione del movimento della parete cardiaca rispetto a lesioni in altre sedi. [53] [55]

Per questo anche le cisti colloidali possono essere correlate a danno miocardico diffuso a banda di contrazione: infatti le cisti, che si formano più frequentemente nel terzo ventricolo, a causa della compressione delle strutture ipotalamiche circostanti vanno ad alterare i centri di regolazione ivi presenti con conseguenze autonome. [33]

3.4.1 Condizioni predisponenti

Probabilmente non basta la semplice condizione da stress fisico o emotivo per scatenare la morte cardiaca da stress, ma deve esserci anche una predisposizione del soggetto.

Spinelli et al. hanno valutato l'incidenza di polimorfismi comuni dei recettori adrenergici $\beta 1$ e $\beta 2$, delle proteine Gs a cui sono accoppiati i recettori e GRK5 che li desensibilizza. Hanno osservato che il polimorfismo GRK5 Leu41 era significativamente più comune nei soggetti con cardiopatia da stress che in un gruppo di controllo e hanno suggerito che questo polimorfismo fosse associato a una desensibilizzazione β -adrenergica potenziata che può predisporre alla cardiomiopatia causata da ripetuti picchi di catecolamine. [52]

Altrimenti, il miocardio può trovarsi in una situazione di ipersensibilità alle catecolamine per diversi motivi. Questo può avvenire per denervazione miocardica [56] che può essere presente in soggetti diabetici [57], con cuori trapiantati [29] o malattia di Chagas silente [58]. In questi casi l'ipersensibilità alle catecolamine potrebbe essere dovuta all'aumento dei recettori adrenergici nelle zone adiacenti a quelle denervate.

Anche le condizioni di ischemia cardiaca possono danneggiare sia i nervi che il tessuto miocardico provocando la denervazione e la successiva re-innervazione del miocardio, come sostenuto dalla scintigrafia simpatica. La necrosi ischemica acuta induce la sovraregolazione dei recettori β -adrenergici ai cardiomiociti adiacenti a quelli danneggiati inducendo ipersensibilità dello stesso recettore e iperreattività alle catecolamine. Inoltre, nell'area infartuata, è stato rilevato un aumento del fattore di crescita nervoso (NGF) che testimonia un tentativo di reinnervazione. [41]

Alcuni ricercatori hanno fornito prove sostanziali dell'iperattivazione e l'interruzione dei terminali nervosi simpatici cardiaci locali e dello spillover di noradrenalina anche nella fisiopatologia della Sindrome di Takostubo. [53] Una possibile spiegazione alla disfunzione contrattile del ventricolo sinistro di questa sindrome sembrerebbe essere la diversa distribuzione dei nervi simpatici e la diversa densità dei recettori adrenergici nelle varie zone del ventricolo sinistro: alta concentrazione nei segmenti basali e bassa nell'apice per quanto riguarda i nervi, e bassa concentrazione nei segmenti basali e alta nell'apice per quanto riguarda i recettori.[34]

Infine, è stato anche notato che alti livelli di catecolamine spostano la funzione del recettore β da una via stimolante (portata avanti dalla proteina Gs) a una via inibitoria (portata avanti dalla proteina Gi) per produrre uno stato inotropo negativo.

Di conseguenza, la fisiopatologia della cardiomiopatia da stress probabilmente riflette le differenze nelle concentrazioni locali di catecolamine nel miocardio, la posizione e la densità dei recettori beta e la loro sensibilità alle catecolamine. [35] Le innervazioni simpatiche non uniformi del miocardio e rilascio di neurotrasmettitori (noradrenalina, neuropeptide Y) in siti iper-innervati, possono indurre squilibrio ionico e prolungamento del potenziale d'azione che aumenta il rischio di aritmie e l'incidenza di morte cardiaca improvvisa. [41]

3.4.2 Conclusioni sulla fisiopatologia

In conclusione, le catecolamine vengono prodotte nella risposta fisiologica di "combatti o fuggi" in condizioni di stress ma se questa diventa eccessiva può diventare disadattiva e contribuire al danno d'organo nei soggetti predisposti, in particolare alterando la normale conduzione cardiaca, così da innescare un'aritmia maligna come la fibrillazione ventricolare, che può essere anche fatale.

È importante sottolineare che, sebbene la morte improvvisa (SUD) sia ora riconosciuta come un problema medico di grande importanza epidemiologica, si è generalmente ritenuto che la malattia neurologica raramente sfoci in SUD. In effetti, è stato tradizionalmente ritenuto che le malattie neurologiche non causino quasi mai una morte improvvisa, con l'eccezione del paziente che muore durante una convulsione epilettica o rapidamente nel contesto di un'emorragia subaracnoidea. Inoltre, si è ipotizzato che le varie sindromi SUD (es. morte improvvisa negli uomini di mezza età, sindrome della morte improvvisa del lattante, sindrome della morte notturna improvvisa inaspettata, morte per paura, morte improvvisa durante una crisi epilettica, una catastrofe naturale, durante attacchi d'asma, durante la sindrome da astinenza da alcol, durante il dolore dopo una grave perdita o attacchi di panico e morte improvvisa durante la guerra) sono completamente separati e non abbiano alcun meccanismo unificante. Ad esempio, è generalmente accettato che la morte improvvisa negli uomini di mezza età sia solitamente causata da un'aritmia cardiaca (cioè fibrillazione ventricolare), che provoca un arresto cardiaco funzionale, mentre la maggior parte dei lavori sulla sindrome della morte improvvisa del lattante si concentra sull'imaturità delle vie respiratorie sistemi di controllo nel tronco encefalico. Tuttavia, la connessione tra il sistema nervoso e il sistema cardiopolmonare fornisce il legame unificante che consente una spiegazione coerente della maggior parte, se non di tutte, le forme di danno neurocardiaco, che può precipitare in alcune condizioni anche fatali [59] come vasospasmo epicardico,

disfunzione microvascolare, contrattilità iperdinamica con ostruzione di un tratto ventricolare o effetti diretti delle catecolamine sui cardiomiociti.

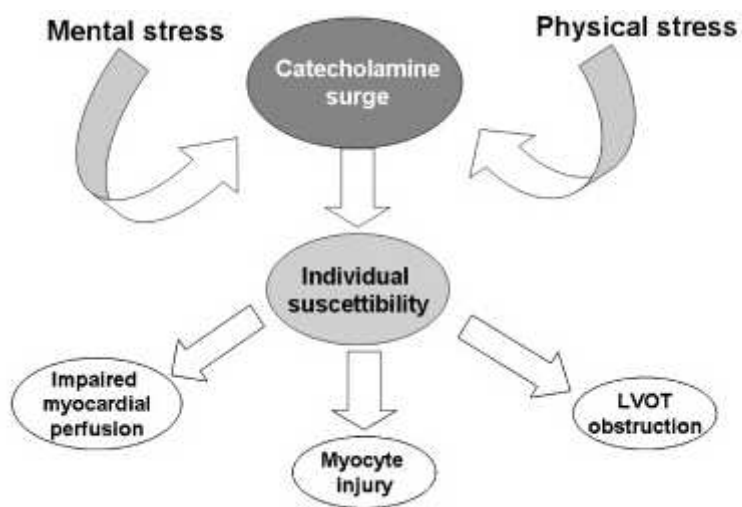


Figura 3.2: Cardiopatia indotta da stress

Capitolo 4

Cardiotossicità da catecolammine

Diversi sono i meccanismi che possono essere responsabili del danno miocardico acuto e cronico associato alle catecolammine. Questi includono un effetto tossico diretto attraverso cambiamenti diretti dal tono autonomico, una maggiore mobilità lipidica, sovraccarico di calcio, produzione di radicali liberi, aumento della permeabilità sarcolemmale e danno miocardico secondario ad un aumento della domanda di ossigeno miocardico e / o una diminuzione dell'apporto di ossigeno a causa della vasocostrizione coronarica indotta da catecolammine o aggregazione piastrinica. [60]

4.1 Tossicità da acidi grassi liberi

Numerosi esperimenti hanno dimostrato che un eccesso di catecolammine sia correlato ad un'alterazione del metabolismo lipidico nel miocardiocita. [61] Maling e Highman (1958) notarono per primi che somministrando levarterenolo, un'ammina simpaticomimetica, si venivano a formare delle gocce di grasso all'interno delle fibre miocardiche. Mentre Norking et al. dimostrarono che somministrando acidi grassi a lunga catena nei cani si poteva indurre infarto acuto. Quindi si cercò di capire quale fosse il meccanismo correlato a questa tossicità lipidica. Hoak et al suggerirono che gli acidi grassi liberi (Free Fatty Acid, FFA) nei miocardiociti causassero un disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa e un danno diretto al miocardio. [62] Mentre altri dimostrarono che potesse essere coinvolta anche la modificazione del sarcolemma con conseguente alterazione della funzione della membrana. [39]

E' stato anche dimostrato che le catecolammine aumentano i livelli di acidi grassi liberi anche per un maggior reclutamento dalle cellule adipose.[62]

4.2 Tossicità da aggregazione piastrinica

Nel 1914 Cannon e Gray dimostrarono che le catecolammine sono in grado aumentare la coagulazione del sangue in vitro. Haft et al. fecero un esperimento su cani pretrattati con inibitori delle piastrine (aspirina e dipiridamolo) e successivamente infusi di noradrenalina; e dimostrando come il danno cardiaco venisse ridotto e che piccoli aggregati di piastrine potessero essere individuati poche ore dopo l'infusione della stessa. [62]

Per comprendere se le catecolammine endogene fossero la causa dell'aggregazione piastrinica venne effettuato un esperimento sui ratti, a cui vennero somministrati a vari stress ambientali: acqua calda, fredda, emorragia. Effettivamente 87 su 100 degli animali presentò aggregazione piastrinica intravascolare polmonare.

Anche Kammermeier e Ober dimostrarono che animali pretrattati con siero antitrombotico o analoghi della prostaciclina manifestarono meno danni conseguenti alla somministrazione di isoproterenolo.

E' noto da molto tempo che gli α agonisti possano indurre aggregazione piastrinica tramite la via del recettore ma l'isoproterenolo è un β agonista puro, quindi il meccanismo alla base dell'aggregazione piastrinica doveva essere un altro.

Alcuni studi hanno evidenziato che la somministrazione di catecolammine possano danneggiare direttamente l'endotelio e quindi promuovere l'attivazione sistemica della coagulazione. [63] Tuttavia, altri studi affermavano che lesioni endoteliali non erano mai rilevate durante la somministrazione di catecolammine. [62]

Il meccanismo della tossicità da aggregazione piastrinica rimane dunque controverso.

4.3 Ipotesi dell'ipercontrazione

Le bande di contrazione sono state considerate come possibile parte del meccanismo fisiopatologico dell' eccesso di catecolammine. Infatti, Fleischer e Loeb suggerirono molti anni fa che il danno miocardico causato dall'adrenalina fosse il risultato di una violenta contrazione muscolare. [62]

Durante un esperimento, portato avanti da Csapo et al, in cui si studiarono i preparati istologici di cuori di animali a cui era stato precedentemente somministrato isoproterenolo, si dimostrò che anche l'insulina è in grado di ridurre sia questa risposta contrattile sia il danno indotto dalla noradrenalina.

Tuttavia esperimenti successivi dimostrarono una chiara dissociazione tra l'eccesso dell'attività meccanica a seguito della stimolazione β adrenergica e la necrosi miofibrillare, poiché i β bloccanti non abolivano in maniera significativa il danno noradrenalina indotto. [62]

Quindi le bande di contrazione potrebbero essere una conseguenza e non una causa della cardiotossicità da catecolammine.

4.4 Danno diretto al miocardio

Cambiamenti nella permeabilità della membrana portano a vari squilibri elettrolitici (ipokaliemia, ipomagnesemia con riduzione di Mg^{+2} intracellulare) che disturbano molteplici processi omeostatici cellulari favorendo un'ulteriore tossicità miocardica. [61] L'ipokaliemia e l'ipomagnesemia concomitanti possono portare, dato il ruolo centrale di questi cationi nell'attività della pompa Na^+/K^+ -ATPasi, a un'ulteriore disomeostasi cationica, che a sua volta può contribuire all'apoptosi e alla necrosi dei cardiomiociti. [62] E' inoltre ormai noto che un'alterazione di questi ioni, soprattutto il potassio, sia correlato ad aritmie, anche fatali.

4.5 Calcium overload

Le catecolammine quando legano i recettori β -adrenergici portano sia all'attivazione di tante proteine, tra cui la proteina chinasi A (PKA) e la proteina chinasi II Ca/calmodulina dipendente (CaMKII) [64]; sia ad un aumento dei livelli di calcio nel citosol. La PKA e la CaMKII attivate dall'aumento dell'AMPC, porta alla fosforilazione dei substrati proteici, tra cui il canale del calcio di tipo L, il recettore della rianodina isoforma Ryr2, la troponina I cardiaca e la proteina C legante la miosina, [65], fosfolambano [66], ma anche le fosfolipasi calcio dipendenti, che, una volta attivate, aumentano la produzione di acidi grassi liberi e lisofosfolipidi. [60]

Queste proteine sono importanti per regolare il sequestro di calcio a livello del reticolo sarcoplasmatico, ed in queste condizioni aumenta il rapporto fosfolambano/SERCA2a che potrebbe portare a disfunzioni contrattili a causa della diminuzione dell'affinità al calcio. [65] [67]

A sostegno dell'importanza del ruolo di queste proteine nella patogenesi, è stato notato che nei soggetti con sindrome di Takostubo il SERCA2a è sottoregolato mentre la sarcolipina è sovraregolata e il fosfolambano è defosforilato.

Inoltre, l'aumento del Ca^{+2} citosolico innesca il rilascio di Ca^{+2} nei mitocondri, che ha un noto ruolo nell'omeostasi e nella segnalazione di necrosi e apoptosi per la cellula. Il sovraccarico di Ca^{+2} mitocondriale compromette la respirazione e la produzione di ATP, porta ad un aumento della produzione di radicali e produce cambiamenti nella permeabilità della membrana mitocondriale (che portano alla sua rottura) tramite i Permeability Transition Pores (mPTP) con conseguente ulteriore degenerazione disfunzionale e strutturale di questi organelli. [65]

A conferma di questa teoria, Opie et al. dimostrarono che bassi livelli di Ca^{+2} e l'uso di calcio antagonisti possano ridurre l'estensione del danno indotto da catecolammine. [62]

4.6 Vasocostrizione coronarica

L'aumento dei livelli di noradrenalina nei terminali del sistema nervoso simpatico porta all'attivazione dei recettori adrenergici. L'attivazione dei recettori adrenergici β_1 delle cellule del nodo senoatriale e del miocardio determina un effetto inotropo e cromotropo positivo. Mentre l'attivazione dei recettori α_1 situati sulle cellule muscolari lisce dei vasi sanguigni porta alla vasocostrizione e all'aumento della pressione sanguigna. [68]

L'aumento della frequenza cardiaca, della contrattilità cardiaca e della pressione sanguigna può portare a uno squilibrio acuto nell'offerta / domanda di ossigeno, aggravata dalla riduzione dell'afflusso di sangue al miocardio prodotta dalla costrizione mediata da α_1 delle arterie coronarie, con conseguente danno ischemico al miocardio. [69] [61]

4.7 Radicali liberi

Molti studi suggeriscono che la stimolazione dei recettori α_1 e β , così come la degradazione enzimatica e non enzimatica delle catecolammine, portino alla formazione di ROS intracellulari. [69]

La stimolazione α_1 adrenergica aumenta l'attivazione del NADPH ossidasi, un donatore di elettroni che è in grado di trasferire un elettrone dal NADPH all'ossigeno per formare il radicale superossido dell'ossigeno. [70]

L'attività di NADPH ossidasi è associata anche ad altre fonti enzimatiche che inducono radicali superossidi (ROS) come la xantina ossidoreduttasi (XOR): un ruolo fondamentale di XO è stato confermato in un modello sperimentale in vivo di disfunzione diastolica indotta da

cocaina, in cui il trattamento con allopurinolo, che è un XO-inibitore, ha impedito l'aumento dei livelli di ROS mitocondriali. [69]

Inoltre, la deaminazione ossidativa MAO-dipendente delle catecolammine forma perossido di idrogeno, che può essere convertito nel radicale idrossile altamente reattivo (OH) attraverso la catalisi dei metalli, chiamata reazione chimica di Fenton. [61]

La stimolazione dei recettori β -adrenergici (β -AR) è associata alla produzione di ROS tramite la PKA. Alcuni autori hanno dimostrato che nei cardiomiociti di topi esposti all'Isoproterenolo si associava un aumento dei ROS, suggerendo che la loro produzione fosse una conseguenza diretta dell'attivazione della via di segnalazione cAMP-PKA nei mitocondri.

Infine, quando è presente un livello eccessivo di catecolammine circolanti, con saturazione dei sistemi monoaminoossidasi [15] e catecol-o-metil transferasi, queste possono subire un'ossidazione chimica che causa ulteriori radicali, chiamati adrenocromi, ottenuti tramite i citocromi c ossidasi. [69]

Gli aminocromi esercitano effetti tossici diretti sulle arterie coronarie (vasocostrizione) e sul miocardio, compresa l'inibizione della fosforilazione ossidativa e la depressione del legame con il calcio, con il risultato complessivo di ridurre la forza contrattile e di produrre un danno necrotico esteso, come mostrato sia in ex vivo che in vivo e in modelli sperimentali. [61]

Quindi, tra i radicali generati con l'eccesso delle catecolammine ricordiamo il perossido di idrogeno, il radicale idrossile e l'anione superossido.

Anche il radicale derivante dall'ossido nitrico sembra essere prodotto in eccesso di catecolammine, infatti è stato evidenziato un aumento dell'espressione di iNOS nei soggetti che abusavano cocaina. [69]

I ROS sembrerebbero indurre la morte della cellula sia tramite necrosi per danno diretto a varie strutture, sia tramite apoptosi. [71] L'apoptosi potrebbe essere attivata dalla produzione di alcune citochine, tra cui il TNF-alfa, responsabile della soppressione del metabolismo mitocondriale. [72] Altre citochine coinvolte potrebbero essere: IL6, IL8, IL10 e anche il MCP-1, la proteina chemotattica per i monociti. [73] Queste citochine hanno un effetto cardio-inibitore e si inseriscono nel contesto dell'eccesso delle catecolammine come risposta adattativa del miocardio diastolicamente compromesso. [69]

La necrosi cellulare, invece, è correlata alla perossidazione dei fosfolipidi di membrana, che alterano la funzione della stessa e favoriscono un ingresso di Ca^{+2} intracellulare, al

danno al DNA, all'ossidazione di varie proteine che si manifestano con aritmie, anomalie del metabolismo, danni strutturali e insufficienza contrattile. [74]

A conferma di questa teoria, Singal et al. dimostrarono che ratti pretrattati con vitamina E, un famoso antiossidante, o zinco, un importante stabilizzatore di membrana, abbiano mostrato meno danni da isoproterenolo. [62]

Oltre a questi meccanismi citati, le specie reattive dell'ossigeno sembrano essere correlati ad un'attivazione della PKA attraverso un percorso non canonico, quindi AMPc indipendente. [66] Questa via alternativa dell'attivazione della PKA può avvenire anche tramite: lipopolisaccaridi (LPS)/interleuchina-1 (IL-1), endotelina-1 (ET-1)/angiotensina II (Ang II), fattore di crescita trasformante β (TGF- β), sfingosina, e perossinitrito. [66]

Di conseguenza il danno mediato dai radicali comprende anche tutte i meccanismi già descritti e correlati all'attivazione della PKA.

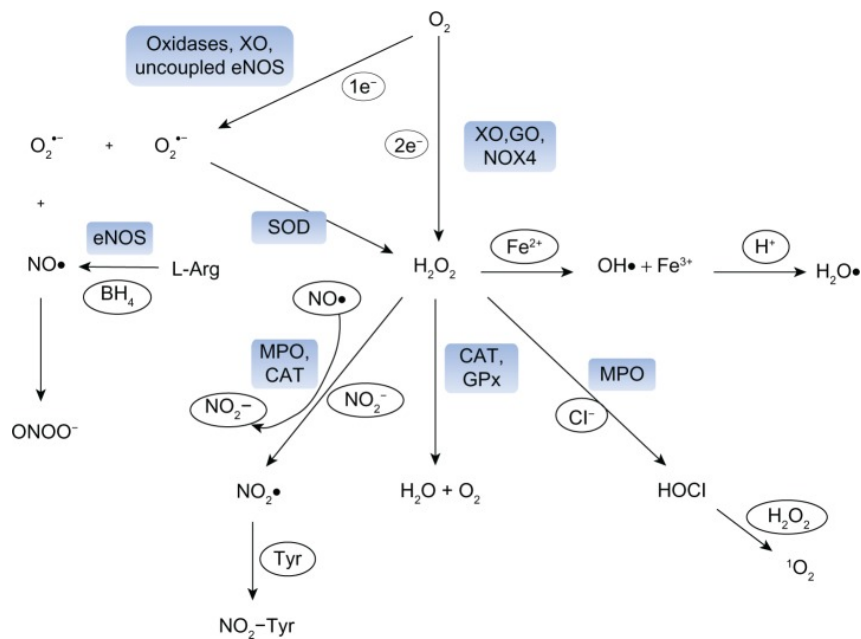


Figura 4.1: Formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS). Abbreviazioni: 1e, un elettrone; 2e, due elettroni; BH_4 , tetraidrobiopterina; Cl^- , anione cloruro; Fe^{2+} , ferro ferroso; H^+ , catione idrogeno; Tiro, tirosina.

[75]

4.8 Danno mitocondriale

I mitocondri sono il centro della produzione di ATP della cellula e possono essere danneggiati a vari livelli: sulla catena di trasporto degli elettroni, sul trasferimento dei

protoni, sull'utilizzazione di ossigeno, sul blocco dell'ATP-sintetasi e a livello del DNA mitocondriale.

I principali danni mitocondriali sono dovuti ad un eccessivo aumento di Ca^{+2} intracellulare, alla carenza di ossigeno o alla formazione delle specie radicaliche.

Qualunque sia il danno, se questo è sufficientemente grave può portare alla formazione del poro di transizione di permeabilità mitocondriale, ovvero un canale di membrana che causa la perdita del potenziale di membrana mitocondriale, che induce la morte per necrosi o apoptosi. [61]

Come già accennato, i mitocondri sono una delle fonti di radicali liberi, poichè molti enzimi deputati alla loro produzione sono presenti al suo interno. Tra questi ricordiamo le monoamino ossidasi, che causano la deaminazione ossidativa delle catecolammine, situate nella membrana mitocondriale esterna; [76] il Nox4, che aumenta la sua attività in risposta di mediatori proinfiammatori come TNFalfa [77].

Inoltre, il rilascio di ROS dalle varie fonti all'interno della cellula stimolano il rilascio ROS indotto da ROSS (RISS), che amplifica il processo ossidativo. [78]

4.9 Teoria unificante

In sintesi, i meccanismi alla base della cardiotossicità sono diversi e sembrano essere integrati tra loro.

Come illustrato in figura 4.2 lo squilibrio tra la domanda e la disponibilità di ossigeno, le alterazioni metaboliche, l'alterazione della membrana sarcoplasmatica e la formazione di radicali liberi convergono nel danno mitocondriale che determina un' importante disfunzione cellulare fino alla morte, per necrosi a banda di contrazione o per apoptosi. [15]

A questo schema si possono poi aggiungere altre fonti di radicali, soprattutto se consideriamo la riperfusione del miocardio dopo un ischemia, che è ormai nota per essere in grado sia di prevenire la morte cellulare sia di accelerare il danno e indurre aritmie. La riperfusione infatti porta sia molecole di ossigeno, che può essere usato per produrre radicali; sia leucociti, normalmente capaci di produrre radicali; sia xantina ossidasi (proveniente dalla xantina deidrogenasi delle cellule endoteliali) e ulteriore calcio.

Infine, proprio per suggerire l'importanza della stimolazione catecolaminergica alla base di questi processi, la necrosi cardiaca è maggiore vicino ai terminali nervosi nell'endocardio

ed è progressivamente meno grave con la progressione verso l'epicardio, dove la sensibilità alle catecolammine è minore.

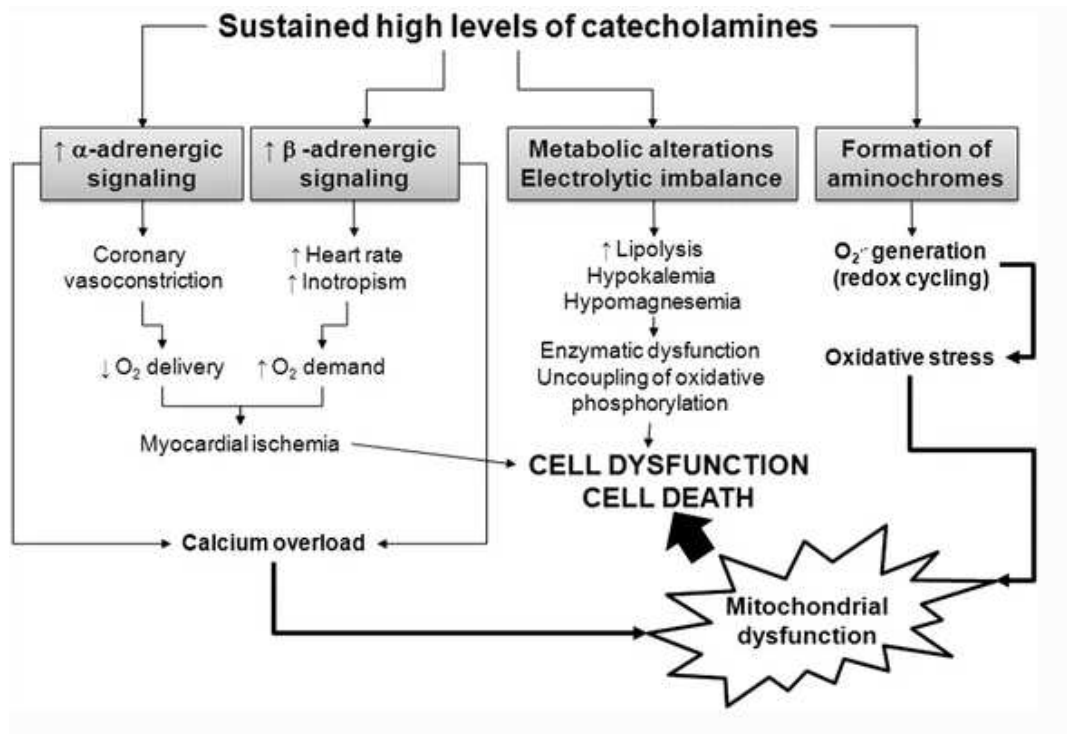


Figura 4.2: Meccanismi di cardiotossicità indotta da catecolammine. [61]

Capitolo 5

CBN o artefatto?

Il termine "banda di contrazione" ha bisogno di una definizione più precisa. Oltre alle bande formate in seguito alla necrosi catecolaminergica, vanno considerate altre bande "patologiche" da cui devono essere distinte mentre si analizza il preparato istologico.

Ci sono due modelli di questa lesione a banda di contrazione. Uno corrisponde alla frammentazione dell'intera miocella (lesione pancellulare), che va dalla rottura precoce nelle bande patologiche a una totale perturbazione granulare (degenerazione miofibrillare) (figura 5.1A e B). Questa distruzione delle cellule miocardiche è probabilmente dovuta all'azione del miocardio contraente su questi elementi rigidi nella tetania. La riparazione della lesione pancellulare avviene mediante digestione macrofagica di tutte le strutture all'interno dei tubi sarcolemmali (pattern alveolare) seguita da una progressiva collagenizzazione.

Il secondo pattern, associato al precedente, è caratterizzato da una banda unica di 10-20 sarcomeri ipercontrattati vicini al disco intercalato (lesione paradiscale) (figura 5.1 C e D). Questa lesione può assumere un aspetto scuro, denso, ultrastrutturale o pallido, chiaro, con linee Z e miofibrille molto sottili e mitocondri "schiacciati" nella porzione normale del miocita. La lesione paradiscale non mostra infiltrati macrofagici e può rappresentare la lesione iniziale che poi evolve in quella pancellulare, o, se si tratta di un cambiamento reversibile, rappresenta una ricostruzione di nuovi sarcomeri, poichè la porzione maggiore della cellula appare normale e mantiene una funzione normale senza interferire con la banda ipercontrattata.[49]

Un'altro tipo di bande di contrazione si può individuare lungo il margine tagliato del miocardiocita vivente (a seguito di biopsia, cuore asportato al momento del trapianto). In questo caso uno strato di 0.5 millimetri di sarcomero ipercontratto forma questa banda chiamata "lesione tagliente".

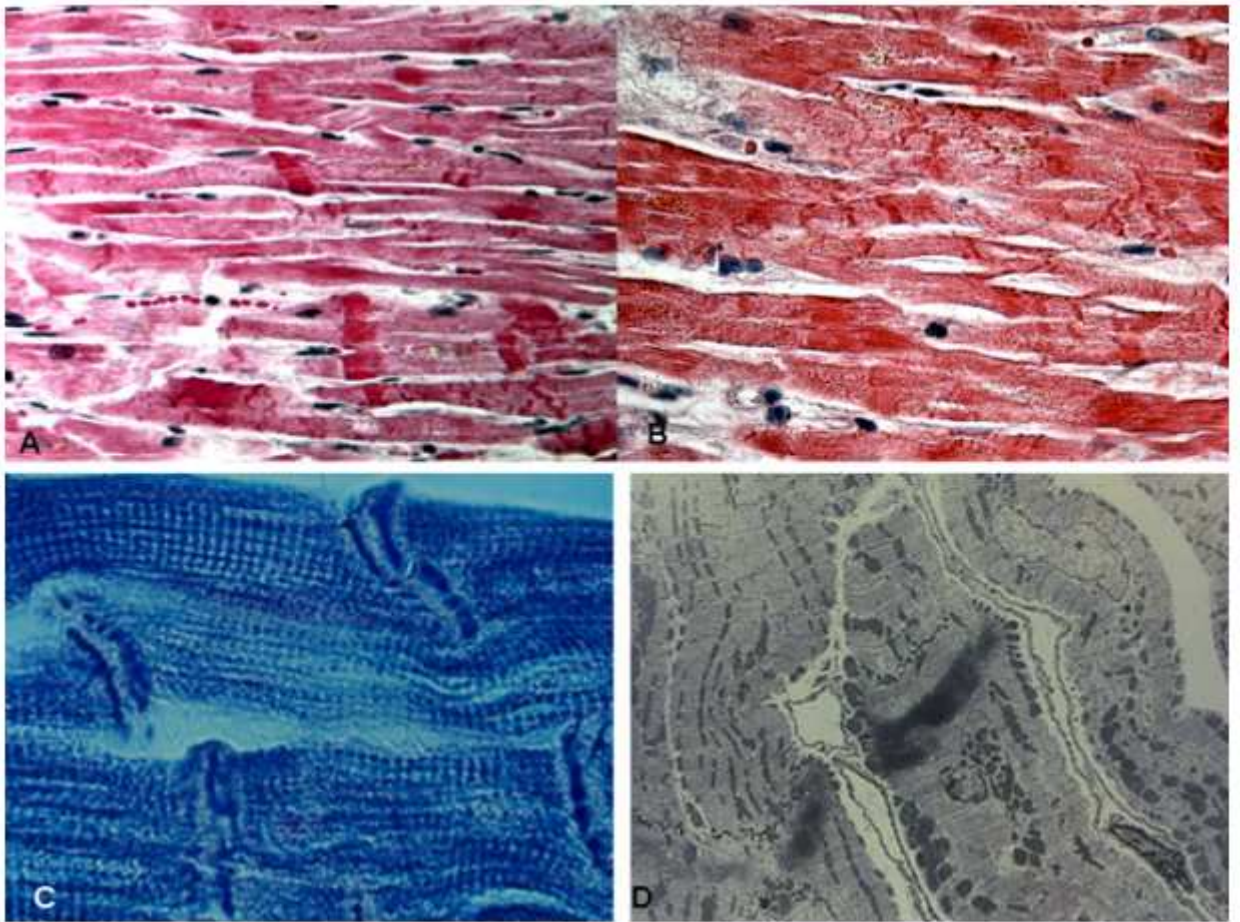


Figura 5.1: Esempi di lesioni a banda di contrazione
[49]

Esiste anche la lesione da riperfusione, un quadro istologico che è emerso da un modello sperimentale di un'occlusione temporanea della coronaria seguita da riperfusione e dall'occlusione coronarica di lunga durata. In questi modelli si poteva osservare un'area infartuata circondata da un "fronte d'onda" di necrosi a banda di contrazione. E' stato erroneamente considerato che fosse il quadro istologico tipico di una lesione ischemica seguita da riperfusione ma in realtà le CB che si possono notare sono dovute alla liberazione delle catecolamine, sempre presenti in condizioni agoniche e non sono parte del processo fisiopatologico infartuale.

Infine, ci sono gli artefatti. Esistono tanti artefatti a bande ipereosinofile che appaiono indistinguibili delle lesioni a banda di contrazione ma, dal punto di vista fisiopatologico, non sono generati da un eccesso di catecolamine. Quindi, visti i possibili errori in cui potrebbe cadere l'esaminatore del preparato istologico, la Society of Cardiovascular Pathology ha

Capitolo 5 CBN o artefatto?

sottolineato l'importanza di riuscire a distinguere le CBN dagli artefatti, ricordando che i tessuti delle CBN, a differenza delle CB, sono circondati da miocardio di aspetto normale e spesso hanno una tonalità basofila granulare a causa della mineralizzazione dovuta alla deposizione intracellulare di calcio.

Questa differenza patologica, però, non è spesso riconosciuta da molti ricercatori. In effetti, le CB artefatto e il CBN non vengono sempre distinti negli esami forensi.

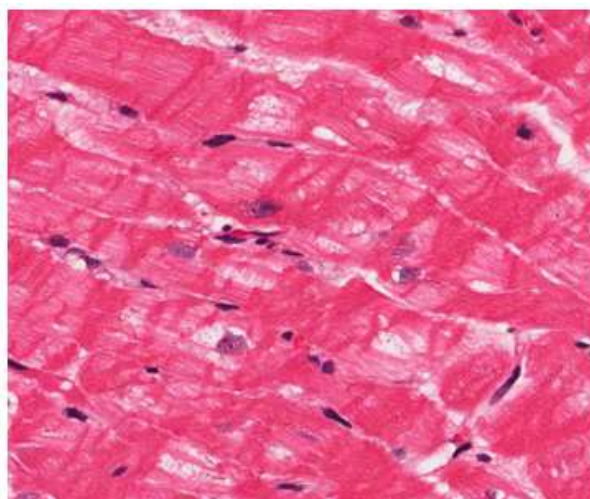


Figura 5.2: Artefatti

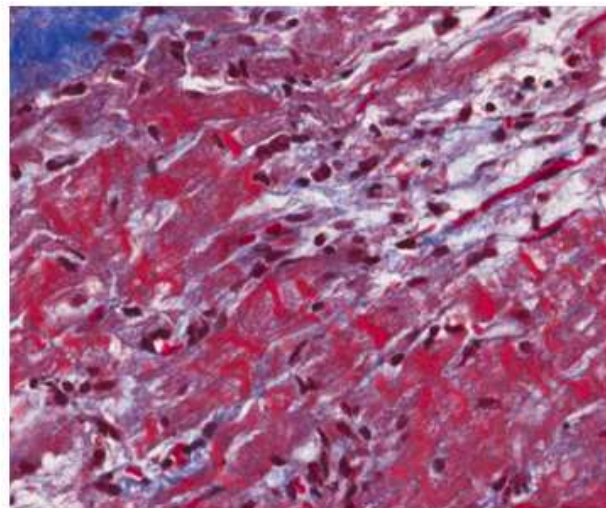


Figura 5.3: Necrosi

Capitolo 6

Utilità delle bande di contrazione in ambito forense

Molti autori negano l'utilità delle bande di contrazione in ambito medico-legale poichè risulta difficile distinguerle da artefatti, che possono essere da inclusione, da decomposizione o da taglio etc Tuttavia, la presenza di CBN, anche se microfocale, potrebbe essere un importante segnale per interpretare la causa di morte e la storia naturale della patologia di un soggetto.

In passato, le CBN sono state considerate come un cambiamento ischemico del miocardio durante un infarto. Da qui nacque un dilemma sul fatto che potessero essere un marker precoce di infarto. Molti autori, come abbiamo già detto nel capitolo 3, si sono cimentati in studi per cercare di confermare o meno questa ipotesi poichè la diagnosi di infarto precoce è una sfida veramente ardua per il patologo, in particolare quando la morte si verifica entro pochi minuti o poche ore dall'insulto ischemico. Infatti, il riconoscimento del danno miocardico precoce, utilizzando la colorazione di routine di ematossilina ed eosina (H E), è possibile solo se la morte si è verificata almeno 6 ore dopo l'insorgenza della lesione ischemica. Il fatto di poter considerare le CB un marker di ischemia precoce avrebbe risolto molti problemi, ma, come abbiamo visto, questa teoria ischemica è stata superata e ormai si sconsiglia di utilizzarle come unica prova di ischemia miocardica.

Attualmente i medici legali non hanno abbastanza dati in letteratura che li spingano ad utilizzare le eventuali CB che potrebbero essere individuate nei preparati istologici di cuori per delle considerazioni pratiche.

Baroldi et al. in uno studio hanno cercato di analizzare e quantificare le CBN nelle diverse condizioni in cui si possono verificare. La frequenza di CBN andava da un minimo di 8% in

Capitolo 6 Utilità delle bande di contrazione in ambito forense

casi di morte accidentale istantanea, per esempio nei soggetti morti per trauma, fino ad un massimo del 100% in soggetti morti per infarto cardiaco. Un trend simile è stato osservato nei termini del numero di foci e miocellule per mm². [26]

Tuttavia, non sono stati fatti molti altri studi sull'estensione e sulla localizzazione di queste CB, così come non è stata definita una procedura univoca per il campionamento del cuore, in modo da poter selezionare le zone in cui queste bande si possano riscontrare con più probabilità. A questo si aggiunge l'estrema difficoltà nel cercare di distinguerle dagli artefatti e l'assoluta assenza di specificità delle situazioni in cui si debbano ricercare, poichè praticamente potrebbero essere presenti in qualsiasi situazione, purchè il soggetto abbia vissuto una situazione stressante, che non sempre è identificabile.

Per questi motivi , attualmente, le CB non sono molto usate nella pratica clinica, e l'obbiettivo di questo studio è riuscire a capire se queste possano tornare utili per fare delle considerazioni pratiche in alcuni casi particolari.

Capitolo 7

Immunoistochimica

La composizione delle bande di contrazione non è mai stata delineata in maniera precisa e vista la diffusione delle tecniche istochimiche ed immunoistochimiche nei vari laboratori, molti autori hanno provato ad applicarle ai campioni istologici delle CB per cercare nuove informazioni che potessero essere utili nella pratica clinica.

La maggior parte degli autori si concentrò nell'utilizzo dell'immunoistochimica per riuscire a fare diagnosi di ischemia precoce, una delle condizioni più note in cui si possono riscontrare le CBN, per cercare di colmare la totale aspecificità dei quadri istologici di routine, che rendono difficile la diagnosi.

L'immunoistochimica si basava sulla positività principalmente su due marcatori: fibronectina e C5b-9. La fibronectina è difficile da interpretare perché la sua espressione è influenzata da diverse variabili (ad esempio, rianimazione e ipossia globale). C5b-9 ha una maggiore specificità e sensibilità, ma non spiega tutti i casi con sospetta ischemia precoce. Inoltre, fibronectina e C5b-9 diventano positivi solo dopo 1 e 2 ore l'insorgenza dell'ischemia, rispettivamente.[79]

Nessuna singola colorazione immunoistochimica è ideale per diagnosticare l'ischemia miocardica precoce, ma una combinazione di marcatori può migliorare la capacità dei patologi forensi di rilevare aree ischemiche quando non sono disponibili prove macroscopiche o microscopiche di necrosi.

Si ricorda sempre che l'interpretazione dei dati ottenuti in ciascun individuo non può essere isolata dalla valutazione complessiva dei fattori (rianimazione cardiopolmonare e/o artefatti agonal) che possono influenzare l'espressione di ciascun marcatore. [80]

In realtà i marcatori testati e riconosciuti sono molti, come ad esempio: desmina, mioglobina, C1, C3, C8, α -actinina e vinculina, troponine T e I, H-FABP (una proteina leganti

Capitolo 7 Immunoistochimica

gli acidi grassi), HIF1 α e PHD (che regolano l'attività del HIF1 α), S100A1 (una proteina legante il Calcio), connexin43, Cx43 non fosforilato (np-Cx43) e zonula occludens-1 (ZO-1), ditirosina (prodotto proteico dello stress ossidativo), galectina-1 (GAL-1), proteina indotta dall'ipossia dell'infarto miocardico precoce, galectina-3 (GAL-3), coinvolta nella mitosi, nella proliferazione delle cellule e nel meccanismo anti-apoptotico, JunB, un fattore di trascrizione appartenente alla famiglia della proteina attivatrice 1, che regola l'espressione genica in risposta a una varietà di stimoli tra cui l'apoptosi, citocromo C e l'inibitore della troponina cardiaca (CTnI).

La mioglobina, la H-FABP, il S100A1 e le troponine tendono ad essere negative all'immunoistochimica nei casi di ischemia precoce, mentre tutte le altre appaiono positive, anche se la positività compare in tempi e modalità diverse per ciascun marcatore.

Nel 2015, però, il giornale "The American Journal of Forensic Medicine and Pathology" ha deciso di classificare per la prima volta le bande di contrazione osservate nei vari tipi di morte in modo da creare un modello che potesse essere aggiornato e che potesse aiutare il patologo forense nella determinazione della causa di morte. In questo studio, portato avanti da Morita et al. è stata valutata la positività a CCC9, una frazione del complemento, e a SIRT1, una deacetilasi che funge da sensore per modulare l'adattamento cellulare all'ipossia agendo a livello di HIF1 α indotto.

Questo studio non considera la differenza tra CBN o CB artefatto dal momento che, come già detto, è difficile distinguerle nella pratica clinica.

Questo studio prevede la classificazione delle CB in 4 tipi:

1. tipo 1: CB indotte da alte temperature (febbre)
2. tipo 2: CB positive a CCC9 e negative a SIRT1, tipiche delle CB indotte in presenza di infarto cardiaco acuto e miocardite
3. tipo 3: CB negative a CCC9 e negative a SIRT1, tipiche dei casi esposti a basse temperature come l'annegamento
4. tipo 4: CB positive a CCC9 e positive a SIRT1, tipico ad esempio dei tentativi di RCP

Gli autori sono consapevoli che questa classificazione non comprende tutti i tipi di CB e infatti suggeriscono di continuare ad aggiornarla con studi futuri.

Sebbene la dimensione del campione sia troppo piccola per creare una classificazione generalizzabile basata sulla reattività CCC9 o SIRT1, il loro studio dimostra una tecnica

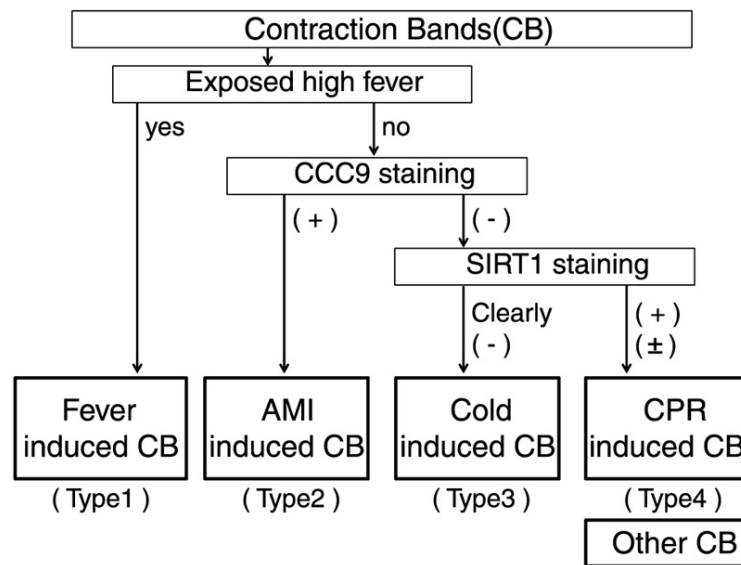


Figura 7.1: The Classification Scheme [81]

promettente per differenziare il CBN dovuto all'infarto miocardico (cioè CCC9 + / SIRT1) da altre eziologie di bande di contrazione. [35]

Infatti, in questo modo, il patologo avrà uno schema ben preciso da seguire, che gli potrà permettere di far diagnosi di infarto miocardico o di escluderla in maniera agevole e ordinata.

Capitolo 8

Precipitazione

Per precipitazione si intende lo spostamento rapido verso il basso di un corpo che si abbatte rovinosamente al suolo per effetto della forza di gravità. Talora, la velocità con cui il corpo raggiunge il suolo dipende dall'interazione di più fattori: gravità, massa corporea, resistenza all'aria, spinta di lancio. . .

Nella precipitazione si distinguono didatticamente 3 fasi: la perdita di equilibrio, la sospensione nel vuoto e l'impatto al suolo. Alcuni suggeriscono di distinguere la precipitazione dalla caduta, volendo indicare con la seconda lo spostamento del corpo verso il basso senza perdita del contatto con il suolo (caduta dalle scale o da una sedia).

È possibile distinguere la precipitazione da grande altezza, quando avviene al di sopra dei 10 metri, da media altezza, quando avviene al di sotto dei 10 metri; e le cadute dall'alto, quando il dislivello è di 1-2 metri. Ad una maggiore altezza non corrisponde necessariamente una maggiore lesività, dal momento che possono intervenire anche altri fattori quali la spinta di lancio, le caratteristiche del piano di collisione al suolo (rigido o elastico) e l'eventuale impatto con oggetti incontrati durante la fase di sospensione nel vuoto. L'urto contro resistenze elastiche (reti di protezione degli acrobati, tele di salvataggio dei vigili del fuoco) esplica azioni traumatizzanti minime; mentre l'urto contro ostacoli incontrati lungo la discesa può attenuare la velocità del corpo in misura tale da determinare lesioni non mortali al momento dell'arresto del corpo contro il suolo. Inoltre, lo stato di rilassamento del corpo al momento dell'impatto al suolo può rendere meno gravi le lesioni nel caso di precipitazioni da media altezza e nelle cadute.[82] [83]

Si distinguono due meccanismi lesivi: uno da urto diretto del corpo contro il suolo e l'altro da improvvisa decelerazione. L'arresto immediato del corpo nella sede di impatto non è accompagnato da un simultaneo arresto degli organi interni che procedono per inerzia nella

Capitolo 8 Precipitazione

direzione del moto, provocando trazioni e lacerazioni a livello degli apparati o legamenti di sostegno.

Differentemente all'immaginario comune, nei precipitati la lesività esterna è minima, ad eccezione degli eventuali traumi contusivi con oggetti incontrati lungo la precipitazione o per deformazioni e fratture, anche esposte, nelle sedi di impatto al suolo. Le lesioni cutanee possono mancare del tutto quando il piano di arresto è rappresentato da una superficie liquida, quindi mari, laghi e oceani. In genere, quando si verifica un impatto contro il suolo rigido si vengono a formare lesioni lacere da strappo, ferite lacerocontuse, ecchimosi o ferite da taglio.

Indipendentemente dall'entità delle lesioni cutanee, nelle precipitazioni prevalgono le lesività interne.

Le lesioni scheletriche sono quasi costanti nei casi di precipitazione. Tra queste si distinguono le fratture craniche a "mappamondo" che si formano in condizioni in cui il trauma di notevole entità avviene contro ampie superfici, tale da riproporre morfologicamente i meridiani e i paralleli di un mappamondo. Si associa spesso deformazione del cranio con ampie lacerazioni encefaliche ed emorragie subdurali, subaracnoidee e intraparenchimali.

Nei precipitati possono osservarsi delle fratture costali dette "a sacco di noci", per la sensazione palpatoria di tastare un sacco di noci. Se il soggetto cade di podice, invece, possono osservarsi fratture ad anello attorno al forame magno, dovute alla trasmissione dell'energia cinetica dalla regione sacrale attraverso la colonna vertebrale che, come uno stantuffo, frattura l'occipite, con una linea circolare attorno al forame magno. [83]

Le lesioni viscerali si riscontrano frequentemente a livello degli organi addominali e toracici organi dotati di un ilo che ne consenta una parziale mobilità all'interno del corpo. A causa della violenta decelerazione si determina una improvvisa trazione degli ili fino alla possibile rottura.

A livello encefalico, in particolare, è possibile osservare aree di contusione in posizioni diametralmente opposta tra loro: una corrisponde alla sede dell'impatto, l'altra alla sede del contraccolpo.

Si possono infine osservare lacerazioni aortiche soprattutto in prossimità dell'istmo, al passaggio della porzione pedunculata, nonché lacerazioni da strappamento del cuore a livello dei vasi della base. [83]

Le lesioni da precipitazione sono quasi sempre mortali; la morte è per lo più istantanea,

Capitolo 8 Precipitazione

da impatto traumatico del corpo, lesioni distruttive cerebrali e midollari, rottura di cuore e di aorta. Quando la morte non è immediata, risultano comunque gravi le condizioni del soggetto, a causa di emorragie importanti conseguenti a rotture dei visceri.

Nei casi di precipitazione è quasi impossibile stabilire la natura omicidiaria, dolosa o eventualmente preterintenzionale, o suicidiaria del decesso. Solo alcuni elementi possono orientare tale diagnosi differenziale. Alcuni di essi sono: la presenza di segni di colluttazione, la precipitazione in ambienti di lavoro, una storia di depressione, storia positiva per altri tentativi di suicidi. [82] [83]

Anche i rari casi in cui si può accertare con elevata probabilità che la vittima non sia stata in condizione di opporre resistenza o se ci sono evidenze di una importante sproporzione di forze tra aggressore e vittima o elementi di sopralluogo significativi (distanza tra cadavere e proiezione al suolo del presunto punto iniziale di precipitazione, altezza di precipitazione, segni di colluttazione, stato degli indumenti) fanno propendere per un'ipotesi omicidiaria. [83] Tuttavia, nella maggior parte dei casi, la precipitazione costituisce ancora oggi una delle principali forme di suicidio.[83]

Capitolo 9

Carbonizzazione

La carbonizzazione fa parte delle lesioni da calore.

Il contatto tra una fonte di calore e la superficie corporea determina effetti lesivi diversi in base al grado di gravità. I primi tre gradi vengono definiti ustioni mentre l'ultimo grado rappresenta la carbonizzazione.

- I grado: è caratterizzato da eritema e edema dei tessuti, senza apprezzabili lesioni epidermiche. Si ha una risoluzione spontanea in 4-5 giorni;
- II grado: è caratterizzato da una raccolta di liquido negli strati superficiali della pelle, sotto l'epidermide, con la formazione di vescicole contenenti un essudato giallo (fittene). Generalmente quando le dimensioni delle vescicole sono piccole si va incontro ad un riassorbimento, altrimenti se la vescicola si rompe si rischia una sovrainfezione batterica. In entrambi i casi la guarigione avviene solitamente entro 2-3 settimane senza esiti cicatriziali, ad eccezione dei casi in cui l'ustione interessa anche il derma;
- III grado: la lesione è profonda con mortificazione dei tessuti dermo-epidermici. Si formano escare secche o umide, brune, compatte, intorno alle quali si instaura una reazione infiammatoria marginale. La caduta dell'escara mette in evidenza il tessuto di granulazione sottostante, con rischio di sovrainfezione batterica. La riparazione avviene grazie alla formazione di tessuto connettivo fibroso che porta alla formazione di evidenti cicatrici, o in alcuni casi, cheloidi;
- IV grado: si determina esclusivamente per effetto di temperature altissime che causano la combustione dei tessuti, che si mostrano nerastri e friabili. La distruzione è profonda

Capitolo 9 Carbonizzazione

e può raggiungere muscoli e ossa. Intorno alla zona carbonizzata esiste una zona di necrosi da coagulazione calorica, a sua volta circondata da tessuto infiammatorio, che, in caso di sopravvivenza, determina il confine della riparazione cicatriziale, sempre molto difficoltosa vista la perdita di sostanza. La carbonizzazione può avvenire solo per azione della fiamma, di corpi solidi fortemente riscaldati o da metalli in fusione. [83] [82]

La morte per carbonizzazione, attentamente analizzata dal medico legale, può essere avvenuta in circostanze che possono suggerire un omicidio o suicidio, e più in dettaglio, l'omicidio può essere doloso, colposo o preterintenzionale, ed è importante riuscire a distinguere la causa della morte e l'origine dell'eventuale incendio dal momento che può essere avvenuto anche negligenza, imprudenza o imperizia dei vari organi preposti alla sicurezza pubblica, con conseguenze penali importanti. [84]

La maggior parte delle morti per carbonizzazione sono accidentali.

Tuttavia, è un serio errore assumere che tutte le morti per carbonizzazione siano causate da "cortocircuito" o "careless smoking". Infatti, alcune delle morti inizialmente considerate come "incidenti" dopo una analisi da parte degli esperti sono state classificate come "attentamente preparate e pianificate". Per questo l'esaminazione post mortem risulta fondamentale per ottenere informazioni sia su come l'incendio si sia verificato, sia sull'identità delle persone coinvolte. [84]

Alla visualizzazione macroscopica è impossibile distinguere le ustioni antemortem da quelle premortem. La valutazione microscopica delle ustioni non è utile per distinguerle a meno che la vittima non sia sopravvissuta abbastanza da permettere una risposta infiammatoria. Tuttavia, anche in questo caso, la mancanza della risposta infiammatoria non indica necessariamente che l'ustione sia avvenuta post mortem.

Se il corpo è severamente carbonizzato, la cute appare raggrinzita ed essiccata, con evidenti spaccature che possono portare alla completa separazione dai tessuti sottostanti, esponendo i muscoli, che spesso appaiono lacerati dall'elevato calore. Nella zona del torace e addome, con la separazione della parete muscolare, possono essere esposti gli organi delle due cavità. Gli organi, in questo caso, possono apparire scottati o carbonizzati. [85] Le ossa appaiono di color bianco-grigiastro, spesso con delle linee di frattura nella corticale, sempre causate da un eccesso di calore. Gli organi interni, come il cervello, possono scoppiare a causa dell'alta

Capitolo 9 Carbonizzazione

temperatura, che porta ad ebollizione dell'acqua in esso contenuta, causando lo scoppio della scatola cranica.

I corpi sono spesso portati in sede autoptica privi di mani e piedi, che, quando vengono carbonizzate, subiscono fratture e separazione dal resto del corpo, che li rendono difficili da riconoscere nella scena dell'incendio. Un'altra caratteristica dei corpi carbonizzati è la possibile attitudine da pugile. Il calore può causare la coagulazione dei muscoli tale da portarli alla contrazione, con conseguente flessione degli arti. Per questo, le estremità del corpo assumono la posizione di un pugile che tiene le mani in alto e di fronte a sé. Questa posizione non è correlata al fatto che il soggetto fosse vivo o morto prima del contatto con il fuoco.

Un altro reperto molto comune in questi corpi è la presenza di un ematoma epidurale postmortem. Per poter distinguere la stessa lesione nel soggetto premortem è necessario valutare il colore: l'ematoma epidurale postmortem appare di colore marrone cioccolato e ha un aspetto a honeycombing e crumbly, e' molto largo e sottile, tipicamente frontale, parietale e temporale. [85]

Il fuoco causa delle lesioni potenzialmente letali, per questo la morte di un soggetto carbonizzato può avvenire per una combinazione di fattori diversi, tra cui ricordiamo:

- Trauma meccanico e sequele. I soggetti carbonizzati possono trovarsi in ambienti incendiati, per cui possono subire traumi da mura o strutture cadenti.
- Eccessiva temperatura. L'ipertermia può essere fatale. Basta l'esposizione a gas ad alte temperature per avere shock e collasso cardiovascolare.
- Anossia e ipossia. La mancanza di ossigeno atmosferico è raramente, da sola, causa di morte di un soggetto. Se c'è abbastanza ossigeno da mantenere vivo il fuoco, ci deve essere abbastanza ossigeno anche per mantenere in vita un soggetto.
- Bruciature: severe bruciature possono portare un soggetto a shock irreversibile.
- Gas tossici: molti incendi causano noti gas tossici, tra cui il monossido di carbonio, diossido di ossigeno, cianuro di idrogeno e solfuro di idrogeno.

E' necessario l'intervento di un medico legale per riuscire a comprendere quali di questi meccanismi sia stato la causa principale della morte del singolo caso e, allo stesso tempo, per individuare i possibili segni di vitalità del soggetto al momento dell'incendio.

Capitolo 9 Carbonizzazione

Alcuni dei segni di vitalità che si possono riscontrare sono: [84]

1. fuliggine nelle diramazioni bronchiali, a dimostrazione della presenza di attività respiratoria nella vittima nel momento in cui si era sviluppato l'incendio
2. alte percentuali di carbossiemoglobina nel sangue contenuto nei ventricoli e periferico, derivato dalla combustione e inalato dalla vittima che, quindi, respirava ancora durante l'incendio.
3. presenza di embolie adipose nei vasi polmonari, derivanti dal grasso sottocutaneo "cotto", a dimostrazione dell'esistenza di attività circolatoria vitale.
4. emorragie subendocardiche nel ventricolo sinistro, che indicano la presenza di una circolazione attiva durante l'incendio. [85]

Un altro quesito che può essere posto al medico legale è quello di capire se l'incendio sia avvenuto per una sopraggiunta e improvvisa problematica medica del soggetto. Tra le improvvise complicanze mediche rientrano sempre le cause cardiache come infarto o disturbi del ritmo.

A tal proposito risulta utile citare uno studio scientifico pubblicato nel 2006 dalla rivista "Aviation, space and environmental medicine" [49]. Gli autori della presente ricerca partivano dal presupposto che il rilievo di alterazioni anatomo-patologiche che permettano di discriminare se un sinistro aereo si è verificato in conseguenza di una improvvisa problematica medica del pilota o per altre cause.

Occorre ricordare che quando si verifica un impatto tra due veicoli, in questo caso aerei, si verifica spesso l'esplosione degli stessi con liberazione di tantissima energia termica, che può determinare la carbonizzazione dei soggetti.

Nel presente studio, l'esame microscopico del miocardio prelevato in corso di autopsia sulle vittime di incidente aereo era confrontato con un gruppo di controllo di soggetti deceduti per impiccamento. Erano esaminate, complessivamente, 80 vittime di sinistri aerei e 44 (di pari età e sesso) deceduti per impiccamento, valutando, in entrambi i gruppi, sia la presenza che la diffusione delle bande di contrazione. Bande di contrazione erano osservate nel miocardio ventricolare sinistro in tutti i gruppi di studio, senza alcuna differenza significativa tra le vittime d'incidente aereo e gli impiccati; l'estensione delle bande di contrazione a tutta la parete ventricolare, tuttavia, risultava significativamente più comune nelle vittime di

incidente aereo ($p = 0,032$), in assenza di grossolane differenze rilevabili tra i soggetti che erano andati incontro a fenomeni di carbonizzazione o meno.

A conclusione di ciò, gli studiosi stabilirono che la presenza di bande di contrazione in un cuore peraltro sano non dovrebbe essere considerata patognomonica di ischemia acuta del miocardio in caso di eventi catastrofici quali i sinistri aerei potendosi, infatti, trattare del risultato di un improvviso trauma distrattivo subito dalle miocellule (cui microscopicamente corrisponde una lesione indistinguibile dalla necrosi a bande di contrazione), della coagulazione delle proteine a causa dell'alta temperatura correlata all'incendio degli aereomobili post impatto; o dell'insulto cellulare catecolamino-correlato. Infatti, per quanto attiene alla genesi delle bande di contrazione, tutte e tre le ipotesi eziopatogenetiche possono essere valide, vale a dire sia un improvviso e importante trauma distrattivo delle miocellule, risultato del violento scontro tra i due velivoli, sia la coagulazione delle proteine per il calore, sia l'ipotesi di un insulto cellulare catecolaminico da ricondurre ad una intensa condizione di stress psico-emotivo che, seppur perdurata pochi istanti/secondi dall'impatto, era di entità tale da generare una immediata disfunzione contrattile ventricolare sinistra con conseguente necrosi miocellulare a bande di contrazione. Anche se meno probabile, non va del tutto esclusa l'ipotesi che un intensa condizione di stress psico-emotivo con conseguente formazione di bande di contrazione avesse preceduto lo scontro aereo, qualora i piloti avessero preso, seppur per brevi istanti, coscienza dell'imminente e a quel punto inevitabile scontro tra i due velivoli.

Capitolo 10

Studio sperimentale

10.1 Razionale dello studio

Il presente lavoro è uno studio retrospettivo su una popolazione di 52 soggetti autoptici deceduti per precipitazione, carbonizzazione o in condizioni caratterizzate da eccesso di adrenalina o noradrenalina. Il fine dello studio è quello di identificare le bande di contrazione che possono essere riscontrate nei campioni istologici del cuore dei soggetti morti per precipitazione in modo da confrontarle, nel caso in cui queste fossero presenti, con i medesimi reperti che possono essere riscontrati nei cuori di soggetti morti per carbonizzazione e soggetti che hanno avuto un noto eccesso di catecolammine, esogene o endogene.

Il disegno dello studio prevede quindi tre gruppi: i precipitati, i carbonizzati e i soggetti morti in condizioni di eccesso di catecolammine. I morti per carbonizzazione, rappresentano il gruppo in cui le lesioni a bande ipereosinofile corrispondono a bande di contrazione o ad artefatti generati dal calore; mentre i soggetti con eccesso di catecolammine rappresentano il tipo di morte in cui ci si aspetta di trovare solo le vere bande di contrazione, causate, appunto, dalla fisiopatologia già descritta.

Per la realizzazione dello studio si è deciso di iniziare revisionando il materiale autoptico conservato negli archivi della Sezione Dipartimentale di Medicina Legale dell'Università Politecnica delle Marche, selezionando solo i casi in cui la causa di morte corrispondeva ad una di quelle disegnate dallo studio.

E' stato deciso di non fare analisi quantitative sulle bande di contrazione che sarebbero state individuate, per cui i risultati prevedono solo la definizione della loro presenza, assenza o, nel caso dei soggetti carbonizzati, se sono stati riscontrati delle bande artefattuali.

Il risultato di questo studio mira a comprendere se le bande di contrazione, che possono essere visualizzate durante le autopsie giudiziarie dei soggetti precipitati, possano essere utilizzate come marker di danno cardiaco, al fine di poterle considerare come parte di un processo fisiopatologico di stress catecolamino-indotto.

10.2 Preparazioni istologiche

Il materiale autoptico è stato visualizzato processato e successivamente analizzato al microscopio ottico. La processazione è un processo fondamentale, da cui dipendono la qualità e la precisione dell'esame: eventuali alterazioni di questo processo impattano negativamente sull'analisi del vetrino, dal momento che si possono formare degli artefatti, tra cui alcuni a forma di bande chiare e scure alternate, che possono fuorviare la diagnosi. Il primo step per la processazione è la fissazione in formalina, che deve essere effettuata immediatamente all'atto del prelievo. La formalina è un fissativo acquoso capace di inattivare gli enzimi autolitici e proteggere il materiale da agenti biologici, quali microrganismi, e agenti chimici-fisici delle successive fasi. Il secondo step prevede l'inclusione in paraffina, che ha l'obiettivo di sostituire l'acqua dei tessuti con una cera. Il tessuto va infatti disidratato, perchè l'acqua in esso contenuta farebbe degenerare il tessuto dopo breve tempo. Per fare questo si usa alcol etilico a concentrazioni crescenti, fino all'alcool assoluto (100%): la penetrazione dell'alcool nei tessuti non serve solo alla disidratazione ma anche a favorire la successiva penetrazione di sostanze includenti. Segue una fase di chiarificazione, in cui si utilizza un composto intermedio, detto chiarificatore (xilene o xilolo), che funge da solvente per la paraffina, facilitandone la penetrazione. Si procede infine con l'inclusione in paraffina. In questo modo il campione è abbastanza duro ed omogeneo da essere tagliato in sezioni, senza che queste perdano la consistenza necessaria per il mantenimento e la successiva osservazione microscopica. Il taglio di sezioni avviene con l'aiuto del microtomo, che permette di fare fette talmente sottili tali da poter essere posizionate su un vetrino e essere penetrabili alla luce, quindi osservabili al microscopio. Per avere una migliore visualizzazione è necessario colorare il vetrino con alcuni "coloranti". Per poter colorare il vetrino è necessario realizzare un processo inverso a quello citato in modo da sostituire la paraffina con coloranti acquosi. Ci sono molti tipi di coloranti ma quelli che sono stati usati in questo studio sono l'ematossilina ed eosina. L'ematossilina, che è carica positivamente, quindi basica e nucleofila, colora

preferenzialmente i nuclei di azzurro (gli istoni e gli acidi nucleici sono infatti carichi negativamente, quindi basofili); al contrario, l'eosina, che è carica negativamente, quindi acida e basofila, colora i citoplasmi di rosa/ rosso (che sono ricchi di ribosomi, quindi acidofili), e a seconda delle variazioni di colore si interpretano le morfologie delle cellule. Una volta colorati, per rendere permanenti questi preparati acquosi, i vetrini vengono messi a contatto con un mezzo di montaggio non acquoso che favorisce la colorazione.

10.3 Criteri di inclusione ed esclusione

Sono state esaminate le cartelle necroscopiche di tutti i soggetti sottoposti ad autopsia giudiziaria o riscontro diagnostico deceduti per precipitazione, carbonizzazione o in condizione di eccesso di catecolammine. Sono stati recuperati dall'archivio del laboratorio di istopatologia forense i vetrini istologici allestiti con sezioni di cuore. Sono stati esclusi tutti i casi che non presentavano vetrini con sezioni cardiache. Alcuni dei casi inizialmente inclusi erano molto remoti (1982 e 1983) per cui non è stato possibile trovare i vetrini nell'archivio, e di conseguenza sono stati esclusi dallo studio. Alla fine sono stati selezionati 52 casi di cui: 19 precipitati, 9 carbonizzati e 24 soggetti morti con eccesso di catecolammine.

I criteri di inclusione per i soggetti precipitati sono: la negatività ai test tossicologici per la cocaina, l'assenza della somministrazione di adrenalina esogena iatrogena e una dinamica del trauma che non comprenda altre fonti di formazione di bande di contrazione o artefatti, come la carbonizzazione pre impatto.

I criteri di inclusione per i soggetti carbonizzati prevedono che l'energia termica sia stata la causa della morte.

I criteri di inclusione per i soggetti morti con eccesso di catecolammine comprendono tutte quelle condizioni che possano portare ad un eccesso di adrenalina o noradrenalina esogena o endogena quale la somministrazione iatrogena di catecolammine durante il tentativo di rianimazione o ricovero ospedaliero, l'intossicazione da cocaina, situazioni stressanti fisicamente o emotivamente in persone altrimenti sane, morti agoniche come annegamento, impiccagione etc

10.4 Materiali e metodi

Stabilita la popolazione oggetto di studio, sono state analizzate e attentamente riportate in tabella 10.1 l'età, il sesso, la diagnosi medico legale ed eventuali notizie circostanziali.

Per ogni singolo caso sono stati osservati al microscopio tutti i frammenti di tessuto cardiaco autoptico sottoposti ad esame istologico, mediamente costituito da non meno di 5 vetrini per ogni singolo soggetto.

Di ogni vetrino è stata segnata la presenza o assenza di bande di contrazione o la presenza di eventuali artefatti a forma bande chiare e scure alternate (per i carbonizzati). Di seguito vengono riportati i dati registrati relativi ai singoli casi (tabella 10.1).

Tabella 10.1: Profilo dei Casi

	Caso	Sesso	età	Diagnosi medico-legale	Notizie circostanziali
Precipitati	6/07	M	38	sinistro aereo	incendio post impatto
	7/07	M	55	sinistro aereo	incendio post impatto
	99/07	M	48	precipitazione da para- cadute	ndr
	95/14	M	31	precipitazione da aereo	carbonizzato
	96/14	M	35	precipitazione da aereo	l'energia termica non è stata concausa di morte
	151/10	M	45	precipitazione da para- pendio	ndr
	144/12	F	21	precipitazione da 120 m	ndr
	107/17	M	21	precipitazione da edifi- cio	abuso di oppiacei ma non cocaina
	20/14	M	51	precipitazione da aereo	lesioni da ustione per incendio post impatto
	9/15	M	69	precipitazione da 3 m	terapia con noradrena- lina

Capitolo 10 Studio sperimentale

	29/15	M	52	caduta al suolo dopo colluttazione	terapia con noradrenalina e ventilazione assistita
	27/15	F	17	precipitazione suicidaria	RCP
	28/15	M	55	precipitazione suicidaria	ndr
	65/12	M	53	precipitazione suicidaria	rottura di cuore
	165/11	M	19	precipitazione suicidaria da 10 m	ndr
	146/11	M	78	precipitazione da albero	shock midollare
	110/10	M	65	precipitazione da 3 m	RCP
	34/16	M	50	precipitazione da albero (3-4 m)	ndr
	13/22	M	45	precipitazione	terapia con 2 fiale di adrenalina
Carbonizzati	98/18	M	73	carbonizzazione suicidaria	ndr
	122/14	M	50	carbonizzazione	ndr
	95/14	M	31	precipitazione da aereo	l'energia termica è stata concausa di morte
	81/14	M	33	carbonizzazione dolosa	immolazione
	170/11	M	37	carbonizzazione post mortem	ndr
	64/11	M	29	carbonizzazione	ndr
	63/11	M	28	carbonizzazione	ndr
	67/10	M	28	carbonizzazione in sinistro stradale	ndr

Capitolo 10 Studio sperimentale

	39/08	M	32	carbonizzazione in sinistro stradale	ndr
Eccesso di catecolamine	167/18	M	30	arresto cardiaco con RCP	positività a metadone e THC
	131/07	F	49	caduta dalle scale con frattura cranica, emorragia e arresto cardiaco	intossicazione da alcol
	113/04	M	75	politrauma da sinistro stradale	terapia con noradrenalina e dopamina
	88/05	F	83	infarto cardiaco	stress post sinistro stradale come causa precipitante
	101/05	M	35	intossicazione di cocaina	ndr
	72/06	M	27	intossicazione acuta di cocaina	RCP
	145/06	M	46	sinistro stradale	terapia con adrenalina
	2/07	F	84	insufficienza respiratoria post traumatica	trasfusione e ventilazione assistita
	14/08	M	73	insufficienza cardio-respiratoria	terapia con adrenalina e RCP
	30/08	F	83	insufficienza respiratoria in BPCO riattivata	terapia con noradrenalina, intubazione e ventilazione assistita
	45/08	M	71	insufficienza cardio-respiratoria da sinistro stradale	terapia con adrenalina, noradrenalina e dopamina
	19/08	M	38	arresto cardiocircolatorio acuto	intossicazione di cocaina

Capitolo 10 Studio sperimentale

46/08	M	83	asfissia cuta da confinamento	ndr
141/08	F	38	emorragia subaracnoidea	terapia con noradrenalina
125/08	F	94	ischemia miocardica acuta	terapia con adrenalina
10/13	F	45	infarto cardiaco	ndr
134/20	M	55	infarto cardiaco	RCP e terapia con adrenalina
136/19	M	24	impiccamento	RCP
150/14	M	49	morte cardiaca improvvisa	cardiopatia cronica di modesta entità precipitata da ambiente caldo per incendio
129/14	M	21	emorragia acuta secondaria a rottura traumatica di cuore	lesioni da arma da fuoco
145/14	F	28	emorragia acuta secondaria a rottura traumatica di cuore	lesioni causate da arma da fuoco
22/22	M	50	sinistro stradale	ndr
27	M	39	ferita da arma bianca al cuore	accoltellamento
42	M	28	colpo di arma da fuoco ritenuto al capo	colpo di arma da fuoco durante tentativo di effrazione

Come si può notare in tabella 10.1, i soggetti morti per precipitazione comprendono:

- soggetti precipitati e morti con sole lesioni da precipitazione senza intervento iatrogeno (99/07, 151/10, 144/12, 107/17, 27/15, 28/15, 65/12, 165/11, 146/11, 110/10, 34/16)

Capitolo 10 Studio sperimentale

- soggetti con lesioni da precipitazione e successivo tentativo di rianimazione con adrenalina (casi 9/15, 29/15, 13/22)
- soggetti la cui morte è ascrivibile per lesioni da precipitazione e carbonizzazione (caso 95/14)
- soggetti precipitati con lesioni da carbonizzazione avvenute post mortem (6/07, 7/07, 96/14, 20/14).

Applicando i criteri di selezione dello studio, sono stati esclusi i casi che hanno ricevuto un intervento iatrogeno con adrenalina e quelli in cui la carbonizzazione è avvenuta prima dell'impatto, in quanto potrebbero rappresentare dei bias ai fini dello studio.

Di conseguenza i casi totali del gruppo dei soggetti morti per precipitazione sono 15.

Per quanto riguarda i soggetti carbonizzati, tutti i casi riscontrati sono stati inclusi nello studio. La positività alla cocaina del caso numero 67/10 non è stata considerata rilevante dal momento che la cocaina causa bande di contrazione soprattutto ad alte dosi, che nella pratica clinica corrisponde alla morte del soggetto per intossicazione della stessa.

Infine, nel gruppo dei soggetti con eccesso di catecolamine, le cause di morte che sono state individuate ed analizzate sono:

- terapia con adrenalina o noradrenalina, a seguito di infarto cardiaco o trauma (113/04, 88/05, 145/06, 14/08, 30/08, 45/08, 141/08, 125/08, 134/20)
- infarto cardiaco o trauma senza somministrazione nota di adrenalina (10/13, 22/22, 131/07, 167/18)
- intossicazione da cocaina (101/05, 72/06, 19/08)
- insufficienza respiratoria post traumatica con trasfusione (2/07)
- asfissia da confinamento e impiccamento (46/08, 136/19)
- morte cardiaca improvvisa (150/14)
- lesione da arma da fuoco (129/14, 145/14, 42)
- lesioni da arma bianca (27)

Capitolo 10 Studio sperimentale

Tutti i casi proposti rispecchiavano i criteri di inclusione.

In conclusione, i casi totali dei diversi gruppi comprendono: 15 precipitati, 9 carbonizzati e 24 soggetti con eccesso di catecolamine.

Tutti i casi sono stati esaminati al microscopio alla ricerca di bande eosinofile alternate a bande chiare. Le bande, affinché potessero essere considerate come vere bande di contrazione, generate da un eccesso di catecolamine, dovevano rispettare alcuni criteri:

1. Non dovevano trovarsi al margine del taglio, poichè è noto che queste siano causate da un artefatto;
2. dovevano essere identificate in miocardiociti tagliati lungo il loro asse longitudinale affinché potessero essere visualizzate;
3. le bande eosinofile dovevano avere margini netti e profilo irregolare all'interno della cellula, visualizzata all'incirca nella sua interezza.

10.5 Risultati

Dopo aver analizzato i vetrini delle sezioni istologiche di cuore dei casi selezionati, i risultati ottenuti sono stati raccolti nella tabella 10.3.

Tabella 10.2: Risultati

	Caso	Diagnosi medico-legale	Notizie circostanziali	CB
Precipitati	6/07	sinistro aereo	incendio post impatto	si
	7/07	sinistro aereo	incendio post impatto	si
	99/07	precipitazione da paracadute	ndr	no
	96/14	precipitazione da aereo	l'energia termica non è stata concausa di morte	si
	151/10	precipitazione da parapendio	ndr	si
	144/12	precipitazione da 120 m	ndr	si
	107/17	precipitazione da edificio	abuso di oppiacei ma non cocaina	no

Capitolo 10 Studio sperimentale

	20/14	precipitazione da aereo	lesioni da ustione per incendio post impatto	si
	27/15	precipitazione suicidaria	RCP	si
	28/15	precipitazione suicidaria	ndr	si
	65/12	precipitazione suicidaria	rottura di cuore	no
	165/11	precipitazione suicidaria da 10 m	ndr	si
	146/11	precipitazione da albero	shock midollare	no
	110/10	precipitazione da 3 m	RCP	no
	34/16	precipitazione da albero (3-4 m)	ndr	si
Carbonizzati	98/18	carbonizzazione suicidaria	ndr	no
	122/14	carbonizzazione	ndr	artefatti
	95/14	precipitazione da aereo	l'energia termica è stata concausa di morte	si
	81/14	carbonizzazione dolosa	immolazione	no
	170/11	carbonizzazione post mortem	ndr	artefatti
	64/11	carbonizzazione	ndr	no
	63/11	carbonizzazione	ndr	artefatti
	67/10	carbonizzazione in sinistro stradale	positivo a cocaina	si
	39/08	carbonizzazione in sinistro stradale	ndr	no
Eccesso di catecolamine	167/18	arresto cardiaco con RCP	positività a metadone e THC	no
	131/07	caduta dalle scale con frattura cranica ed emotorace	intossicazione da alcol	no

Capitolo 10 Studio sperimentale

113/04	politrauma da sinistro stradale	terapia con noradrenalina e dopamina	si
88/05	infarto cardiaco	stress post sinistro stradale come causa precipitante	si
101/05	abuso di cocaina	ndr	si
72/06	intossicazione acuta di cocaina	RCP	si
145/06	sinistro stradale	terapia con adrenalina	si
2/07	insufficienza respiratoria post traumatica	trasfusione e ventilazione assistita	si
14/08	insufficienza cardio-respiratoria	terapia con adrenalina e RCP	si
30/08	insufficienza respiratoria in BPCO riattivata	terapia con noradrenalina, intubazione e ventilazione assistita	si
45/08	insufficienza cardio-respiratoria da sinistro stradale	terapia con adrenalina, noradrenalina e dopamina	si
19/08	arresto cardiocircolatorio acuto	intossicazione da cocaina	si
46/08	asfissia acuta da confinamento	ndr	si
141/08	emorragia subaracnoidea	terapia con noradrenalina	si
125/08	ischemia miocardica acuta	terapia con adrenalina	si
10/13	infarto cardiaco	ndr	si
134/20	infarto cardiaco	RCP e terapia con adrenalina	si
136/19	impiccamento	RCP	si

Capitolo 10 Studio sperimentale

150/14	morte cardiaca improvvisa	cardiopatia cronica di modesta entità precipitata da ambiente caldo per incendio	si
129/14	emorragia acuta con rottura traumatica di cuore	lesione da arma da fuoco	si
145/14	emorragia acuta con rottura traumatica di cuore	lesioni da arma da fuoco	si
22/22	sinistro stradale	ndr	si
27	ferita da arma bianca al cuore	accoltellamento	si
42	colpo di arma da fuoco ritenuto al capo	colpo di arma da fuoco durante tentativo di effrazione	si

In questo studio si è cercato di distinguere l'artefatto dalla vera banda di contrazione, mettendo a confronto casi in cui ci si aspetta di avere degli artefatti da calore, con dei casi in cui ci si aspetta di vedere le vere bande di contrazione, in modo da poter discriminare se le bande eosinofile identificate nei soggetti precipitati rappresentino un artefatto o una vera CB.

I risultati ottenuti sono stati riassunti nella tabella 10.3.

Tabella 10.3: Riassunto dei risultati

	<i>n</i> casi totali	<i>n</i> casi con CB presenti	<i>n</i> casi con CB assenti
Precipitati	15	10	5
Carbonizzati	9	2 CB + 3 artefatti	4
Eccesso di Adrenalina	24	22	2

10.5.1 Casi carbonizzati

Il risultato dei casi carbonizzati è stato distinto in "artefatti" e CB, con rispettivamente 3 casi e 2 casi. Questa distinzione si è resa necessaria dal momento che sia il calore sia

Capitolo 10 Studio sperimentale

l'adrenalina che può essere liberata come meccanismo riflesso durante la carbonizzazione di un soggetto quando questo è ancora in vita, possono dare delle lesioni a forma di bande chiare e scure alternate. A volte i reperti originati dall'energia termica sono indistinguibili dalle vere bande di contrazione che si formano in casi di eccesso di catecolamine, mentre altre volte questi artefatti hanno caratteristiche diverse, tali da non poter essere confusi con CB. Tuttavia, a causa di questa duplice natura e a causa della difficoltà di distinguere un artefatto da una vera CB, gli autori sono concordi nel non usare questo reperto, in questa precisa modalità di morte, per trarre delle considerazioni a fini pratici.

Osservando i risultati dello studio, gli artefatti da calore sono stati identificati sicuramente in 3 casi tra i soggetti carbonizzati. Questi artefatti si manifestano proprio con delle bande chiare e scure alternate, come si può vedere in foto 10.1 del caso 122/14, esattamente come le vere bande di contrazione, tuttavia, se confrontate con le cellule vicine, queste bande hanno un profilo troppo regolare e margini sfumati, tale da non poter essere considerate vere CB. L'origine di questi reperti istologici sembra essere la coagulazione delle proteine a causa del calore liberato dalla carbonizzazione.

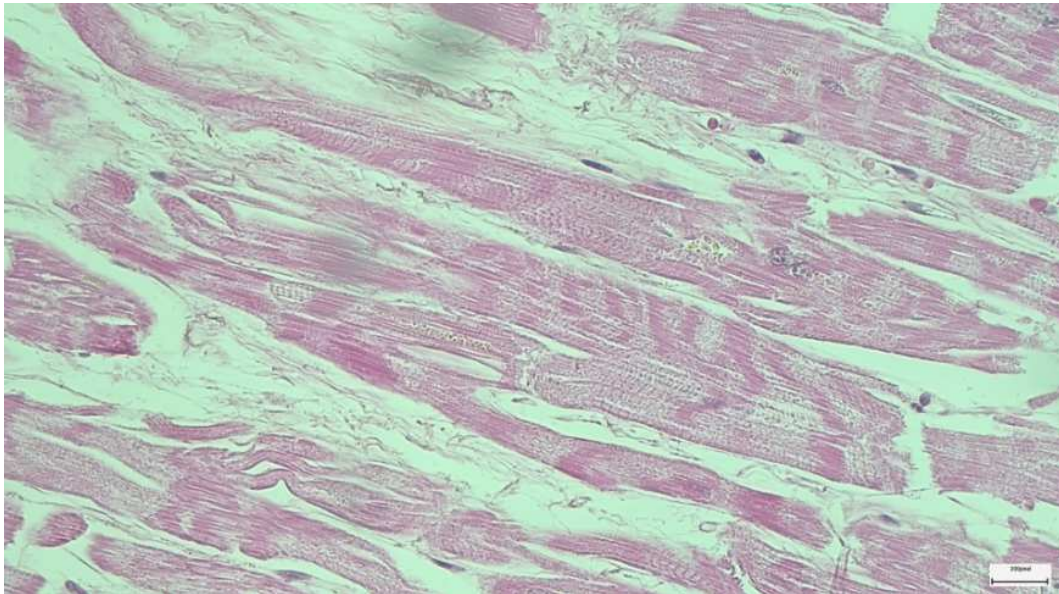


Figura 10.1: Caso 122/14, Artefatto da carbonizzazione

Un caso simile è il 63/11 (foto ??), in cui la maggior parte dei vetrini esaminati mostra queste bande sottili dai margini sfumati. In questo caso un altro aspetto importante che fa propendere più per un artefatto piuttosto che una banda di contrazione è l'estensione in quasi tutti i vetrini esaminati, in contrasto con le vere CB, che, quando presenti, sono concentrate

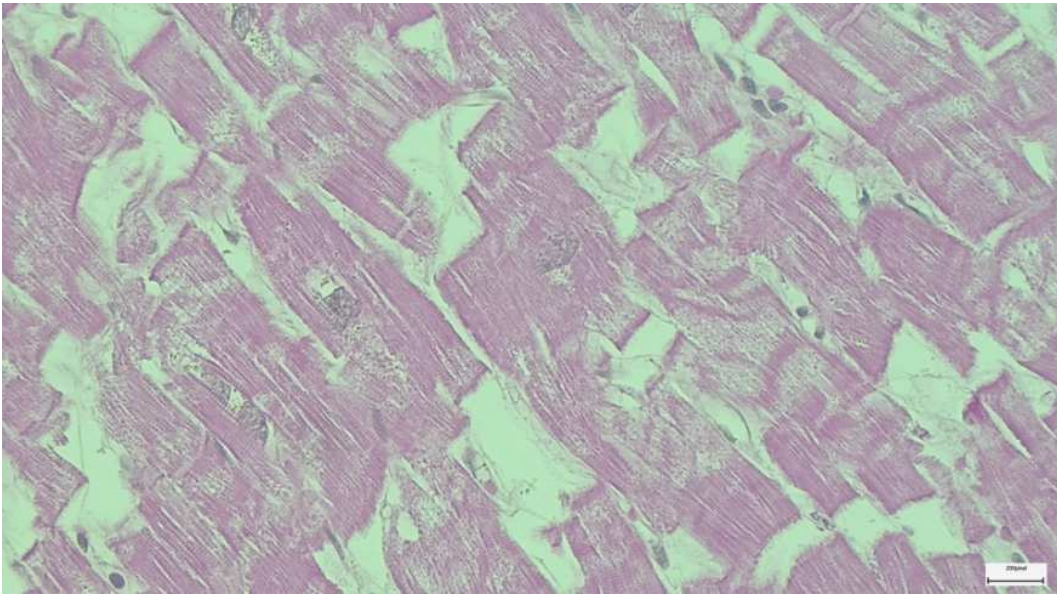


Figura 10.3: Caso 170/11, Artefatto da calore

in zone più o meno estese.

Un altro esempio dove si nota un artefatto da calore è il caso numero 170/11. In foto 10.3 e 10.4 si possono osservare le cellule parzialmente degradate, come se fossero coagulate, con le proteine addensate in bande dai confini sfumati. Anche in questo caso, data l'estensione su più vetrini dello stesso reperto si può dire con una certa probabilità che la causa sia l'elevata temperatura generata dalla carbonizzazione.

Un altro caso interessante, presente tra i soggetti carbonizzati, è il caso numero 67/10. In foto 10.5 si può vedere come l'azione del calore abbia causato la separazione dell'endocardio, e in corrispondenza del miocardio sottostante si riscontrano bande ipereosinofile alternate a bande chiare. L'origine di queste bande è dubbia: diverse sono le cause che le possono aver generate. La prima ipotesi è che possono essersi generate dalla coagulazione delle proteine durante la carbonizzazione, avendo un chiaro segno dell'effetto del calore a livello endocardico; oppure la separazione dell'endocardio può aver generato un "artefatto da taglio"; oppure, in ultima istanza, possono essere una conseguenza dell'eccesso di catecolamine, tale da rappresentare le vere CB; ipotesi da tenere in considerazione visto la meccanica del trauma (foto 10.5). Il caso in questione, infatti, corrisponde ad un soggetto morto durante un sinistro stradale con successiva carbonizzazione del veicolo dopo l'impatto. La dinamica del trauma è compatibile con una condizione di stress con rilascio delle catecolamine, tale da non poter escludere che queste bande rappresentino le vere CB.

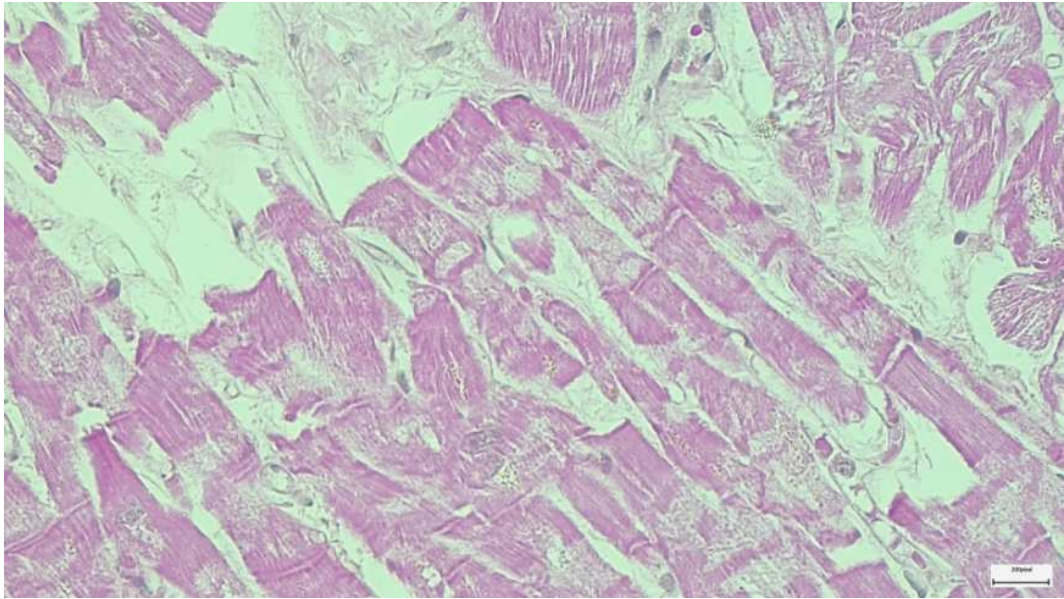


Figura 10.4: Caso 170/11, Artefatto da calore

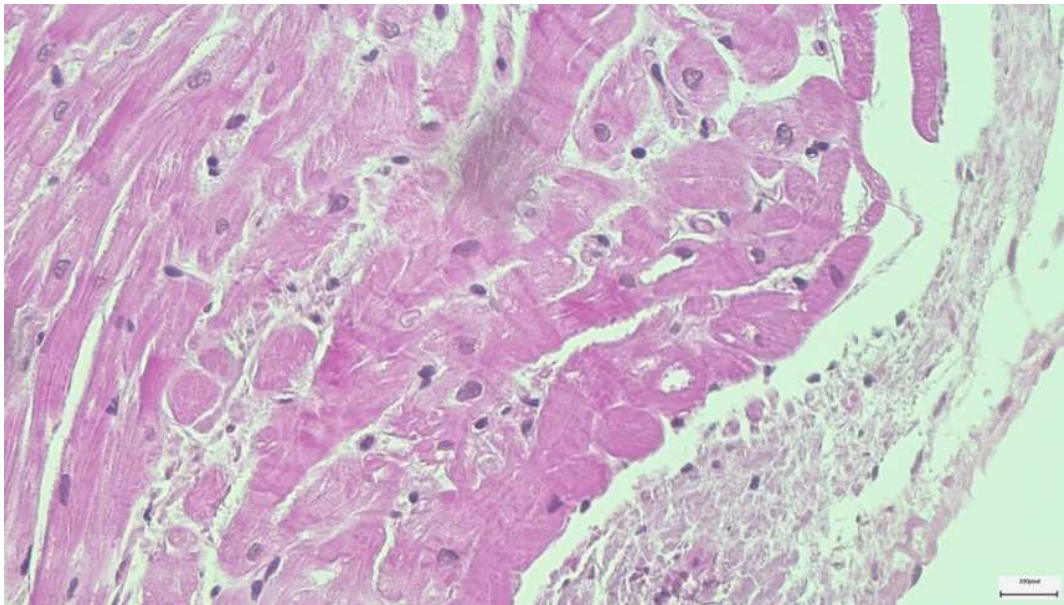


Figura 10.5: Caso 67/10, Artefatto da calore o CB?

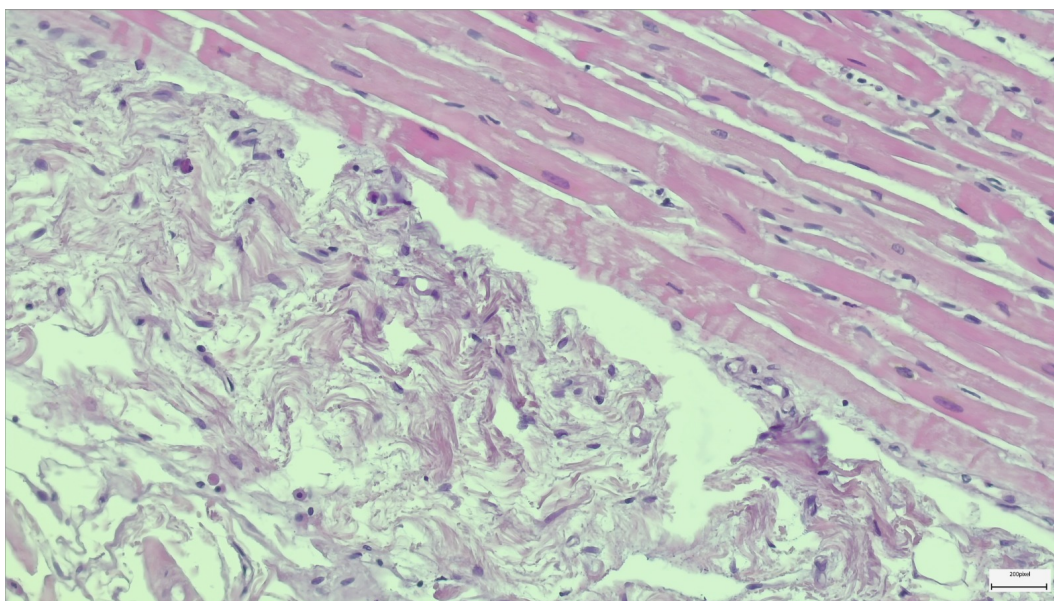


Figura 10.6: Bande di contrazione in soggetto in terapia con adrenalina

10.5.2 Casi con eccesso di catecolamine

I casi scelti per il gruppo di soggetti morti con eccesso di catecolamine sono stati selezionati in base alle modalità di morte che nella letteratura avevano mostrato reperti di bande di contrazione. I casi comprendono sia eccesso di catecolamine esogene o sostanze con analoga farmacodinamica (cocaina), condizioni di stress emotivo (lesioni da arma da fuoco o da arma bianca) e condizioni di stress fisico come infarto, traumi importanti (esclusa la precipitazione) o impiccamento. I risultati delle analisi microscopiche confermano i dati della letteratura: il gruppo con eccesso di catecolamine rappresenta quello con il numero più alto di CB individuate, se paragonate ai soggetti carbonizzati e precipitati. Le bande di contrazione riscontrate si manifestano nella lunghezza della cellula, tagliata longitudinalmente, con bande dai margini netti e profili irregolari, come si può osservare nelle foto 10.6 e 10.7, individuate rispettivamente in soggetti che hanno avuto un trauma con successiva somministrazione di adrenalina e infarto miocardico acuto.

Dai dati raccolti si può notare che in tutti casi in cui c'è stata la somministrazione esogena di adrenalina o noradrenalina come intervento iatrogeno sono state riscontrate bande di contrazione. Lo stesso risultato è stato trovato nei casi di intossicazione acuta da cocaina, come ampiamente sperimentato dalla letteratura scientifica.

Anche il caso con arresto cardiaco senza somministrazione esogena di catecolamine ha evidenziato le CB, che, possono essere spiegate come lesioni causate da una risposta riflessa

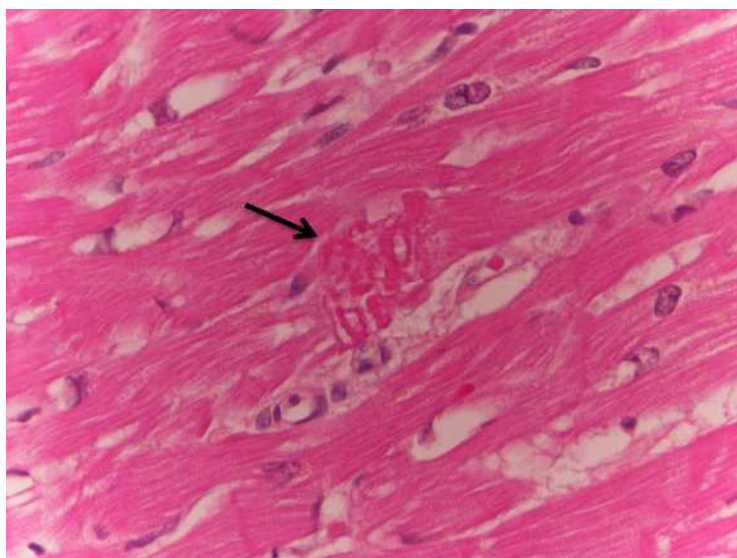


Figura 10.7: Bande di contrazione in caso di infarto miocardico acuto

di attivazione dell'ortosimpatico all'ipocinesia cardiaca, tipica di un paziente con infarto in corso.

Un altro caso in cui è stato lo stress fisico ad attivare l'ortosimpatico e la conseguente liberazione di catecolamine tale da produrre vere bande di contrazione è il 46/08, un soggetto morto per asfissia da confinamento. Trattasi di un'asfissia che si instaura progressivamente, quando una o più persone sono chiuse in uno spazio o ambiente di volume ridotto e confinato, come un sacchetto di plastica nel caso di specie. L'asfissia comincia a manifestarsi quando l'ossigeno dell'ambiente (normalmente contenuto nell'aria atmosferica in quantità del 21%) scende al di sotto del 7%; la morte per asfissia sopraggiunge qualora la percentuale di ossigeno scenda al di sotto del 3%, limite che non è più in grado di assicurare la sopravvivenza. Alla carenza di ossigeno si aggiungono gli effetti dannosi derivanti dall'accumulo di anidride carbonica espirata dagli individui rimasti al chiuso, dal surriscaldamento dell'ambiente, dalla saturazione dell'aria con vapore acqueo e da altri prodotti tossici della respirazione. Saturazione dell'aria si ha anche ad opera di eventuali sostanze nocive presenti nell'ambiente confinato; nel caso di specie, il soggetto aveva infilato un tubo della condotta del metano all'interno del sacchetto di plastica. Tale sostanza nociva, pur non legandosi con l'emoglobina o con altri tessuti del corpo, favorisce il confinamento, saturando lo spazio e consumando o facendo fuoriuscire l'ossigeno.

Questa forma di asfissia è lenta nel suo decorso e la morte sopraggiunge in tempi condizionati dalla ristrettezza dell'ambiente confinato. Il quadro anatomico-patologico mostra i reperti

Capitolo 10 Studio sperimentale

generici dell'asfissia come l'edema polmonare e ha evidenziato anche una condizione di ischemia cardiaca; patologia che può essere stata causata dallo stress derivato dalla carenza di ossigeno in seguito ad evento asfittico.

Anche un altro tipo di asfissia ha mostrato le lesioni a banda di contrazione. Parliamo del caso numero 136/19, un soggetto giovane morto per impiccamento.

L'azione di compressione ab estrinseco, in base all'entità della compressione ed alle modalità e sede dell'applicazione del vettore di forza, può determinare la morte per tre differenti motivi, che possono agire singolarmente o congiuntamente: l'occlusione delle vie respiratorie; l'arresto della circolazione ematica nei vasi del collo; l'azione di schiacciamento delle strutture nervose. L'impiccamento consiste nella violenta costrizione esercitata da un laccio applicato intorno al collo, fissato con un estremo ad un sostegno e posto in trazione dal peso del corpo completamente o incompletamente sospeso (a seconda che l'individuo sia interamente sospeso nel vuoto, senza appoggio, o tocchi terra con i piedi o con altra parte del corpo, inginocchiato, seduto o semiprono). Il fattore asfittico interviene quando il laccio, scorrendo in alto ed arrestandosi al margine inferiore della mandibola sposta indietro l'osso ioide e solleva la base della lingua contro il palato molle e la faringe, in modo da occludere le vie aeree. Il fattore circolatorio è in rapporto con la compressione dei grossi vasi del collo (carotidi e giugulari) che arresta gran parte della circolazione cerebrale provocando ipossia del tessuto nervoso ed immediata perdita di coscienza. Trazioni molto energiche sul collo possono causare anche la chiusura delle arterie vertebrali e quindi determinare l'anossia totale dell'encefalo. La chiusura delle giugulari, ostacolando il deflusso del sangue venoso, aggrava, per effetto della stasi venosa acuta del territorio cefalico, il danno cerebrale. Il fattore nervoso dipende dalla compressione e dallo stiramento del nervo vago e dall'eccitazione dei recettori nervosi carotidei, dai quali possono partire stimoli che in via riflessa cagionano l'arresto del cuore. Pertanto, in taluni casi, la morte per sincope cardiaca precede e subentra agli altri fattori anzidetti. L'evento si svolge tumultuosamente per il sopraggiungere della morte entro alcuni minuti. La durata complessiva della sindrome asfittica varia da 4 a 6 minuti, sebbene esistano variazioni individuali che modificano la resistenza all'asfissia. Si calcola che, in condizioni normali, l'uomo resista senza danni all'apnea per 30-40 secondi; dopo 3-5 minuti di sospensione del respiro si instaurano lesioni asfittiche gravi che possono diventare irreversibili e portare a morte. Si spiega così lo stress fisico che subisce il soggetto appeso e che può concorrere a causare lesioni a banda di contrazione nel cuore.

Capitolo 10 Studio sperimentale

Altri due sono casi molto interessanti nel contesto delle bande di contrazione: il caso numero 88/05 e 150/14. Le relazioni autoptiche hanno concluso che le condizioni di stress di questi due pazienti hanno fatto precipitare le loro condizioni portandoli alla morte. In dettaglio, il caso 88/05 corrisponde ad una signora di 83 anni con diverse comorbidità tra cui una cardiopatia ischemica, importante miocardiosclerosi, diabete mellito e dislipidemia; che, a seguito di un incidente stradale, ha avuto una precipitazione del suo stato di salute, portandola a più ricoveri ospedalieri e alla fine alla morte giorni dopo il sinistro stradale. Nel caso di specie è ragionevole ritenere che l'evento stressante, verificatosi nell'immediatezza dell'evento e nei giorni successivi al grave insulto traumatico, portava ad una discrepanza fra richiesta e disponibilità, discrepanza che risultava tanto più grave in quanto il soggetto si trovava già in una non ottimale condizione di salute. In letteratura è infatti risaputo come la genesi dell'ischemia miocardica trovi il suo fondamento, da una parte nella riduzione del flusso coronarico e dall'altra nell'aumento del consumo miocardico di ossigeno. In condizioni basali nel cuore l'estrazione di O₂ è molto alta (circa il 70%); ne consegue che se la domanda metabolica aumenta, l'unico meccanismo di compenso è rappresentato da un proporzionale aumento del flusso coronarico, che si attua attraverso la vasodilatazione del distretto coronarico arteriolare. La presenza di lesioni aterosclerotiche delle coronarie, come nel caso di specie, che ostruivano i vasi, determina a valle della stenosi una caduta di pressione che è proporzionale alla riduzione del calibro vasale. Il gradiente pressorio che così si crea stimola la dilatazione delle coronarie, allo scopo di mantenere un flusso adeguato in condizioni basali. Se la richiesta metabolica aumenta, il circolo coronarico non è più in grado di far fronte alle richieste, avendo esaurito la propria "riserva", e quindi, compare l'ischemia e, in questo caso, la morte.

Il caso 150/14, invece, corrisponde ad un signore di 49 anni, la cui professione era vigile del fuoco, che va in contro a decesso per morte cardiaca improvvisa durante un incendio. Nel caso in esame l'esame necroscopico ha evidenziato una modesta ipertrofia miocardica eccentrica con dilatazione delle cavità cardiache, nel contesto del quale, le analisi istologiche mostravano aree di sostituzione fibro-adiposa e disorganizzazione strutturale di fasci di miocellule (miocardial disarray). Dobbiamo a questo punto ricordare quelle che erano le modalità di intervento del soggetto la sera in cui decedette. Egli indossava una tuta ignifuga, un apparato di respirazione formato da bombole e boccaglio; inoltre l'intervento si svolse in un ambiente reso caldo dall'incendio. E' possibile ipotizzare che le non perfette condizioni

Capitolo 10 Studio sperimentale

cardiache e l'ambiente e le modalità di intervento, abbiano concorso ad instaurare un disturbo acuto del ritmo e/o della conduzione cardiaca. Il decesso è stato quindi ascritto ad un disturbo del ritmo e della conduzione favorito dall'ambiente e dalle modalità di intervento.

Entrambe le situazioni descrivono quindi una precipitazione di condizioni precarie dopo un evento stressante dal punto di vista fisico, il sinistro stradale per la signora e l'incendio per il signore, e dal punto di vista mentale, poichè entrambe le situazioni possono aver causato un'iperattivazione dell'ortosimpatico tale da portare ad una liberazione di adrenalina che, con i suoi effetti tossici a livello cardiaco, può aver peggiorato la situazione dei signori portando ad un'aritmia fatale o alla slentizzazione di un'ischemia.

Altri casi interessanti connessi con uno stress emotivo sono i casi 27, 42, 129/14 e 145/14, tutti causati da lesioni da armi. La dinamica dell'omicidio-suicidio che ha coinvolto i casi 129/14 e 145/14 ha portato alla morte di entrambi i soggetti a causa delle lesioni prodotte da armi da fuoco. In entrambi i soggetti sono state ritrovate delle bande di contrazione a livello delle sezioni istologiche del cuore che probabilmente non sono correlate al meccanismo della morte, essendo questa avvenuta precipitosamente a causa del colpo al cuore che ha portato ad una rottura traumatica con emorragia acuta, ma alla situazione stressante che l'ha preceduta. I due casi facevano parte della stessa famiglia e la ricostruzione delle dinamiche dell'incidente prevede che il padre abbia prima commesso un omicidio contro il figlio, di cui non sono stati analizzati i reperti al fine di questo studio, poi abbia colpito la madre del ragazzino, per poi suicidarsi, sempre causando lesioni con la stessa arma da fuoco. Gli attimi che hanno vissuto i due soggetti devono essere stati profondamente stressanti tale da portare ad iperattivazione del sistema ortosimpatico, che ha determinato, quando i soggetti erano ancora in vita, le lesioni a banda di contrazione.

Uno stress simile deve essere avvenuto nel caso numero 42, un soggetto morto per un colpo d'arma da fuoco alla testa durante tentativo di effrazione, in cui sono sempre state rivenute bande di contrazione all'esame istologico.

Un altro caso molto interessante da prendere in esame è stato il caso n.27 riguardante un soggetto deceduto per accoltellamento diretto al cuore durante una colluttazione. L'aspetto particolare di questo caso è che le bande di contrazione sono state riscontrate lungo il margine del taglio e non nel resto del vetrino. È stato dunque da noi ipotizzato come, non solo uno stress di tipo funzionale sia in grado di formare la MBC, ma anche uno stress di tipo meccanico esercitato direttamente sulle miocellule.

Infine, gli unici due casi in cui non sono state riscontrate bande di contrazione sono il caso 131/07 e 167/18. Il caso 131/07 rappresenta una signora caduta dalle scale con conseguente frattura cranica ed emotorace associate ad infarto cardiaco. Invece il caso 167/18 rappresenta un signore morto di arresto cardiaco con temporanea ripresa del ritmo successiva ad RCP. Entrambi i soggetti mostravano una positività agli esami tossicologici: alcol per il caso 131/07 e metadone e THC per il 167/18. Nessuna delle due sostanze è notoriamente associata alla formazione di bande di contrazione.

10.5.3 Casi precipitati

Il gruppo dei soggetti precipitati comprende soggetti che hanno avuto un impatto al suolo da diverse altezze: 3 casi sono precipitati da 3-4 metri, 5 casi da un edificio, 1 caso da un ponte, 2 casi da un parapendio/paracadute e 4 casi da un aereo. Come già anticipato, sono stati esclusi i soggetti che non essendo morti sul colpo hanno ricevuto una terapia rianimatoria con adrenalina, così come quelli che hanno avuto una carbonizzazione pre-impatto.

I casi che hanno mostrato bande di contrazione sono 10 su un totale di 15 soggetti.

Analizzando più in dettaglio, i soggetti che sono precipitati da aerei hanno mostrato tutti delle lesioni a banda di contrazione. I casi in questione sono i numeri 6/07, 7/07, 96/14 e 20/14 (foto 10.8). La precipitazione di un aereo può avvenire a seguito di un problema tecnico- strutturale, condizioni meteorologiche avverse, problematiche che coinvolgono il pilota (imperizia, negligenza, imprudenza), scontro tra due aereomobili o l'abbattimento volontario di uno di questi. In caso di incidenti in quota, la quantità di energia dispiegata nell'impatto è espressa dalla massiva decelerazione subita dal veicolo, che passa da una velocità di centinaia di chilometri orari (anche superiori ai mille per i tornado), ad una quantità di moto pari a zero. Nel caso di urto frontale tra due aerei come nella fattispecie 96/14 e 95/14, le velocità si sommano. Questo tipo di incidente comporta di regola la morte di tutti i passeggeri a bordo dell'aereo. Ne derivano conseguenze drammatiche per le vittime, che subiscono una disintegrazione con depezzamento (decapitazione, detroncazione, mutilazione di arti, lesioni da scoppio dei visceri toraco-addominali), nonché successiva dispersione delle parti di cadavere. Uno degli aspetti più importanti dal punto di vista medico -legale è, quindi, che la precipitazione da un aereo a differenza delle altre morti per precipitazione può comprendere anche lesioni da carbonizzazione, nel caso in cui l'impatto abbia causato anche un incendio, e importanti lesioni causate da eventuali oggetti con cui si

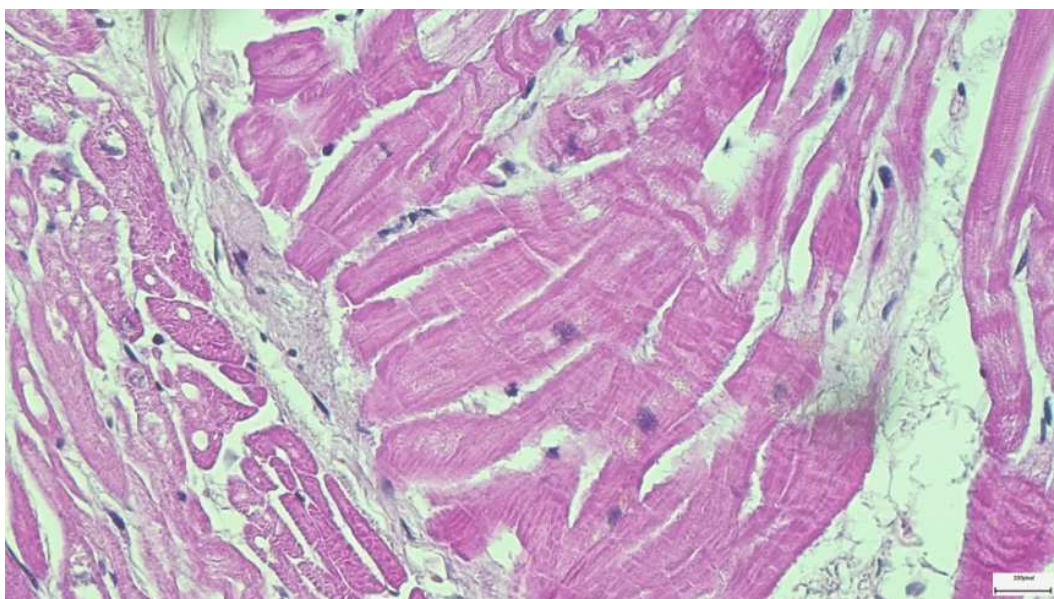


Figura 10.8: CB in soggetto precipitato da un aereo

può venire a contatto durante la caduta o durante l'onda d'urto derivante dall'esplosione. Tra i nostri casi sono stati considerati solo i soggetti che sono precipitati da aerei che non hanno subito incendi e quelli in cui nonostante l'incendio, l'energia termica non è stata causa di morte. In questo modo abbiamo evitato di scambiare dei possibili artefatti da calore con le vere bande di contrazione.

Due casi importanti da citare in merito agli incidenti aerei sono il 95/14 e il 96/14, due soggetti deceduti per scontro di due aereomobili in collisione. Dai referti autoptici è stato stabilito che il caso 95/14 è morto anche per le lesioni da carbonizzazione, mentre il 96/14 è morto solo per l'energia meccanica derivante dall'impatto. In entrambi sono state riscontrate le lesioni a banda di contrazione ma il caso 95/14 è stato inserito nel gruppo dei carbonizzati e come tale non si può dire con certezza che le bande riscontrate siano derivate da un eccesso di catecolamine poichè potrebbero rappresentare anche artefatti da calore.

I due casi precipitati da parapendio 151/10 e paracadute 99/07, quindi da circa 500-600 metri, non hanno avuto concordanza nel risultato. Il primo caso ha mostrato lesioni a banda di contrazione, come mostrato in figura 10.9 e il secondo no.

C'è poi un soggetto morto per precipitazione da 120 metri che mostra importanti bande di contrazione, come evidenti in figura 10.10.

Poi ci sono casi di precipitazione suicidiaria, che generalmente avviene per caduta da un edificio. Tra questi casi ritroviamo il 107/17, 27/15, 28/18, 65/12 e 165/11. Il caso 107/17

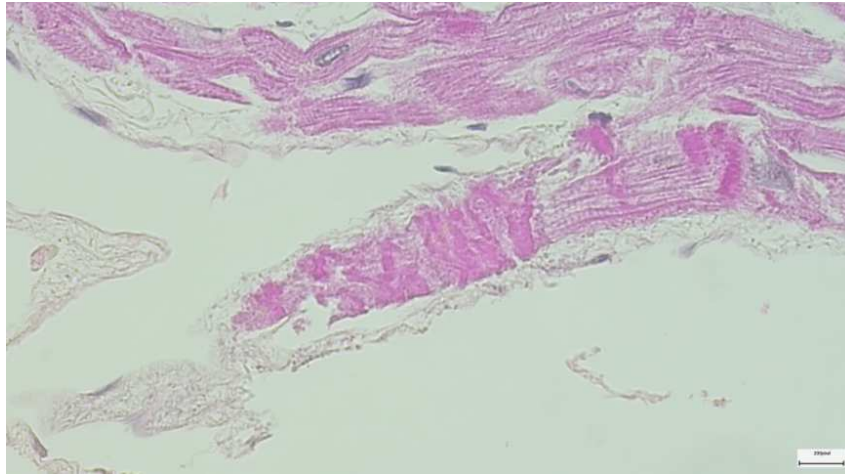


Figura 10.9: CB in soggetto precipitato da parapendio

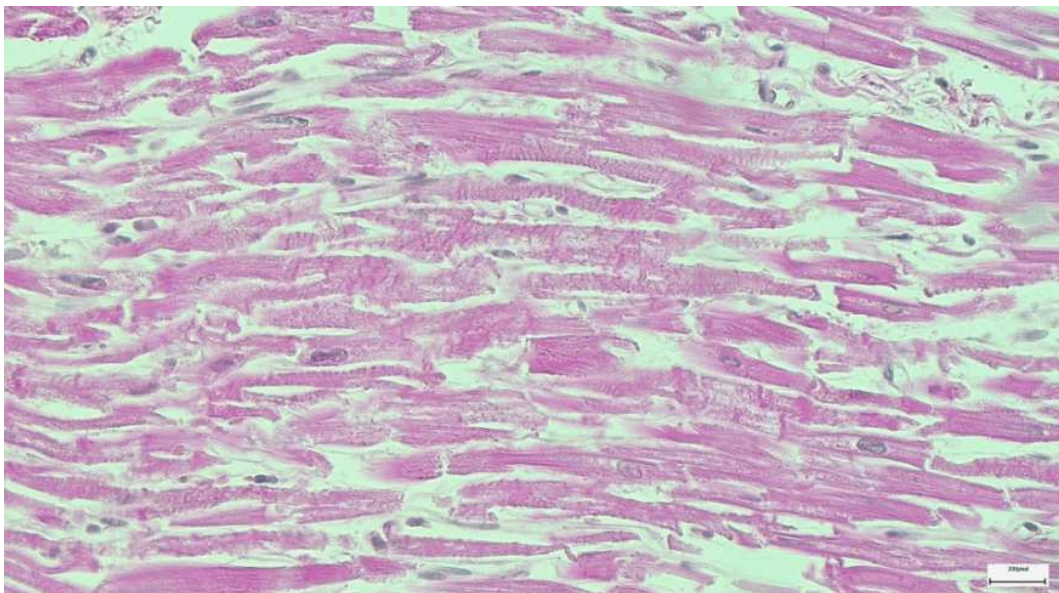


Figura 10.10: CB in soggetto precipitato da 120 metri

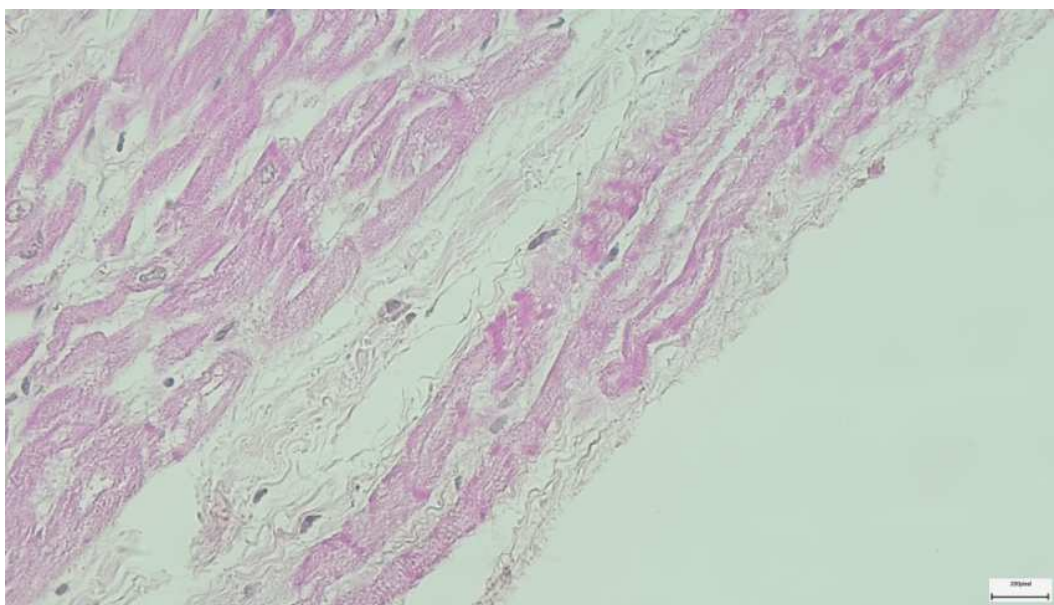


Figura 10.11: CB in precipitazione suicidiaria

corrisponde ad un soggetto che aveva fatto abuso di oppiacei ed era precipitato da un edificio, senza manifestare bande di contrazione. Il caso 65/12 ha fatto evidenziare dei reperti dubbi, visibili in foto 10.12. In questo caso le bande non si manifestano come le vere bande di contrazione, ma sono anche molto diverse dagli altri artefatti che sono stati individuati nel corso dello studio. Questo è un valido esempio che fa capire quanto sia difficile riuscire a distinguere una banda di contrazione dall' artefatto, qualunque sia la sua origine. Una possibile ipotesi potrebbe essere che la rottura di cuore, che è stata identificata durante l'autopsia del caso di specie, possa aver causato uno stress meccanico in alcuni punti tale da produrre un'ipercontrazione dei miocardiociti e formare queste bande dubbie. Tuttavia, in altre parti del vetrino sono state evidenziate lesioni a bande come in figura 10.13, che hanno molte più caratteristiche della vere CB.

Il caso 27/15, invece, mostra evidenti bande di contrazione, che possono essersi generate sia da uno stress emotivo, trattandosi di un suicidio, sia fisico, dal momento che la ragazza in questione non è morta sul colpo ma è stata portata in ospedale per cercare di rianimarla (senza l'uso di adrenalina), morendo poco dopo. Questo significa che per un certo periodo il suo corpo ha vissuto momenti stressanti causati dalle lesioni prodotte dalla precipitazione, tra cui le lesioni alla gabbia toracica che hanno fortemente limitato le sue capacità respiratorie.

Infine, i casi 28/15 e 165/11 hanno manifestato focolai di bande di contrazione (foto 10.11), trattasi entrambi di precipitazione suicidiarie.

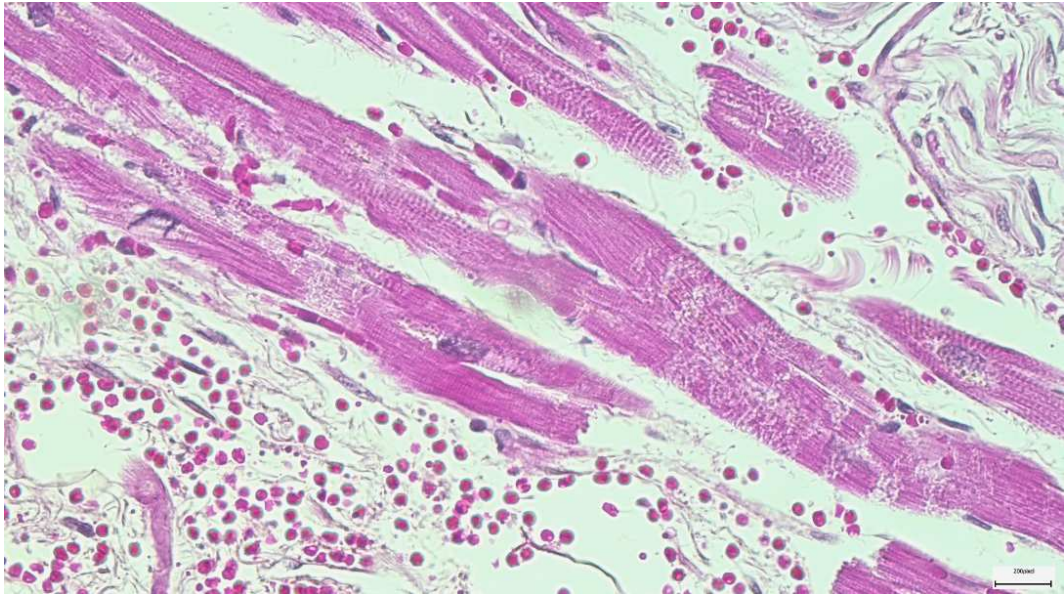


Figura 10.12: Caso 65/12, Bande dubbie

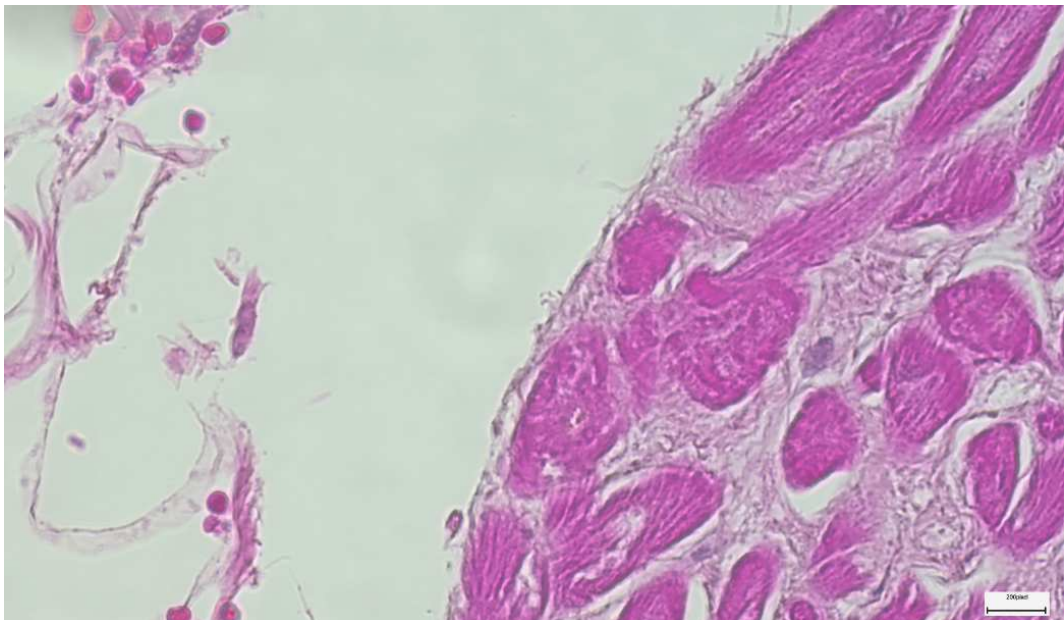


Figura 10.13: Caso 65/12, Bande dubbie

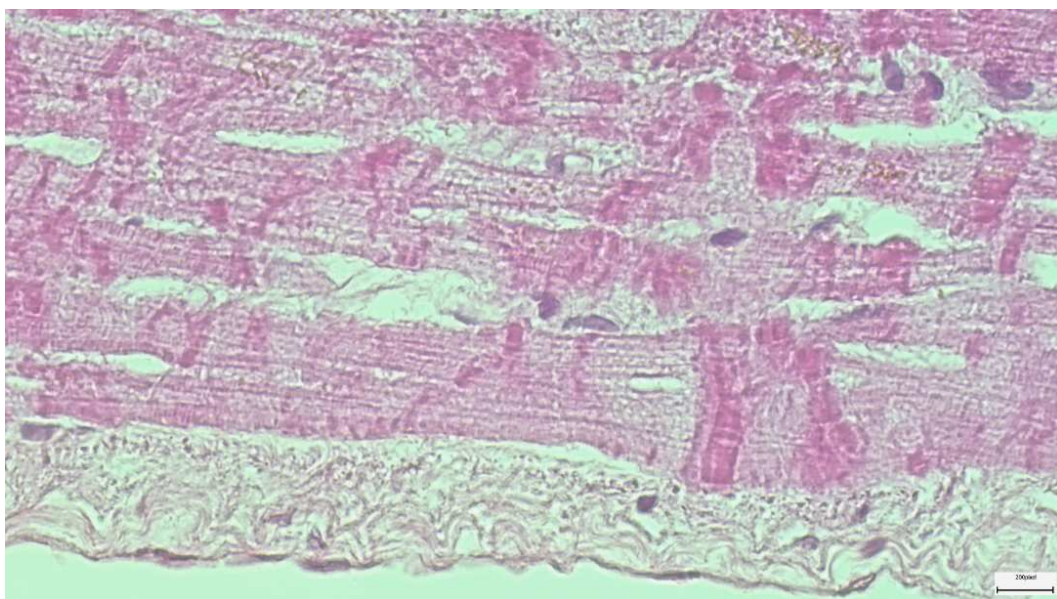


Figura 10.14: CB in soggetto precipitato da albero

Infine, analizziamo i casi morti per precipitazione da 3-4 metri, cioè i casi 110/10, 34/16 e 146/11. Due su tre casi non hanno manifestato bande di contrazione. I caso 110/10 e 146/11 non sono morti sul colpo ma hanno subito rispettivamente un ricovero per shock midollare e RCP. Invece del caso 34/16 non abbiamo particolari notizie circostanziali ma sono state riscontrate CB evidenziabili in figura 10.14.

Capitolo 11

Discussione

I risultati ottenuti dimostrano che le bande eosinofile rappresentano un reperto istologico frequente nei cuori di soggetti morti per precipitazione, carbonizzazione e con eccesso di catecolamine.

Le CB sono state individuate 10 soggetti precipitati su un totale di 15 casi e in 22 casi con eccesso di catecolamine su 24 casi totali. Il gruppo dei carbonizzati è stato invece descritto distinguendo le lesioni a forma di banda in CB, quando queste rispettavano le caratteristiche delle vere bande di contrazione (2 casi), dagli artefatti (3 casi) in cui le bande sembravano proprio esito della coagulazione delle proteine da parte del calore; e identificando 4 casi del tutto negativi per bande eosinofile alternate a bande chiare.

Come abbiamo accennato, il gruppo dei soggetti morti con eccesso di catecolamine ha dimostrato che la terapia iatrogena con adrenalina causa sempre delle lesioni a banda di contrazione. Questo ha un risvolto pratico importante, perchè l'adrenalina è un farmaco vasoattivo e inotropo utilizzato spesso in terapia intensiva e rianimazione, ma anche durante gli interventi di urgenza come la rianimazione cardiopolmonare avanzata. Si tende ad utilizzare questo farmaco senza considerare che ogni volta che lo si somministra, si crea un danno probabilmente piccolo, microscopico, forse insignificante, ma comunque irreversibile a livello di qualche miocardiocita. A seguito di questo danno il miocardiocita, nei giorni successivi, va incontro a morte cellulare e viene sostituito da fibrosi. Il tessuto fibroso, conducendo in maniera differente l'impulso rispetto al tessuto muscolare, genera delle zone elettricamente e meccanicamente alterate. Conseguentemente, qualora vi sia nella parete cardiaca un'area di sostituzione fibro-adiposa, il normale percorso compiuto dall'impulso elettrico per eccitare e far contrarre le cellule cardiache risulta modificato. Questa alterazione può dare origine "meccanismi di rientro", con conseguente comparsa di aritmie cardiache,

cioè di patologiche modalità di eccitazione-contrazione del cuore, che possono essere anche fatali.

Utilizzare adrenalina in un soggetto "sano" generalmente non porta a questo quadro così drammatico, perchè altrimenti non sarebbe un farmaco di così largo utilizzo in ambito medico, ma in soggetti comorbidi, con cardiopatie, miocardiosclerosi e coronaropatie, che per qualche motivo (trauma, shock, anafilassi etc ...) hanno bisogno di un supporto inotropo/vasopressore e quindi ricevono una terapia con adrenalina o noradrenalina, il piccolo danno microscopico che si potrebbe venire a formare potrebbe essere pericoloso e magari contribuire al peggioramento della loro condizione.

Studi futuri potrebbero portare avanti la ricerca sulla correlazione tra adrenalina esogena e formazione di bande di contrazione per cercare di quantificare sia la dose di catecolamine necessaria a determinare lesioni, sia l'estensione del danno cardiaco che da esse ne deriva, oppure cercare di capire quali siano le comorbidità che, se associate a terapie con catecolamine, possono precipitare più facilmente in aritmie fatali.

Tuttavia, questo danno cardiaco da adrenalina, come dimostrano i nostri dati, può essere causato anche da un eccesso di catecolamine endogene per attivazione del sistema ortosimpatico. I casi in cui c'è uno stress fisico che abbiamo analizzato e in cui abbiamo riscontrato danni al miocardiocita con lesioni a banda di contrazione sono l'asfissia da confinamento e impiccamento, infarto miocardico acuto, e trauma in paziente anziano o comorbido. Le condizioni di stress emotivo che hanno manifestato gli esiti del danno catecolaminergico sono i casi con lesioni da arma da fuoco e arma bianca, che come abbiamo già descritto, rappresentano condizioni profondamente estenuanti per i soggetti coinvolti. Un discorso analogo lo si può affermare per le bande di contrazione che abbiamo riscontrato nei soggetti precipitati. La precipitazione da un aereo o da un parapendio/paracadute è profondamente logorante per un soggetto, che ha la consapevolezza di vivere gli ultimi istanti di vita. Lo stesso vale per soggetti che precipitano da edifici, soprattutto per il fatto che tale precipitazione rappresenta spesso una modalità di suicidio, e, non a caso, 5 dei nostri casi precipitati da medie altezze erano suicidi. In questo contesto l'aspetto emotivo è ancora più preponderante dal momento che è il soggetto stesso che decide se e quando compiere l'atto, aspetto che lo spinge a vivere emozioni logoranti, fortissime.

Un aspetto interessante è che le CB nei soggetti precipitati sono state identificate soprattutto in precipitati da grandi altezze: tutti i casi precipitati da un aereo, 1 caso precipitati da un

Capitolo 11 Discussione

parapendio, il caso precipitato da 120 m, e 3 dei 5 casi precipitati da un edificio.

I soggetti che non hanno mostrato CB sono soprattutto quelli di bassa altezza (precipitati da 3-4 m), 2 soggetti precipitati da edifici e 1 da paracadute.

Un aspetto curioso è che i casi dei gruppi dei precipitati e dell'eccesso di catecolamine dove non sono state riscontrate CB sono positivi all'esame tossicologico per oppioidi, alcol, THC, metadone, che sono tutte sostanze che tendono ad inibire il sistema nervoso. Inoltre un altro caso di precipitazione negativo alle CB è il caso precipitato da un albero (146/11), che ha portato a caduta di schiena con conseguente lesione midollare, che come è noto, può causare una prevalenza del sistema parasimpatico sull'ortosimpatico, contrastando quindi la formazione delle CB.

Se queste due ipotesi non dovessero essere corrette potremmo affermare che le CB si formano in base al tempo di caduta, che coincide con l'altezza a cui si trova il soggetto prima dell'impatto: tanto da trovare le CB in tutti i casi di precipitazione da alte quote e in solo 1/3 dei casi precipitati da basse quote. In questo modo si spiegherebbe che le bande di contrazione possano formarsi in condizioni in cui il soggetto si rende conto della situazione, e di conseguenza, del pericolo di vita a cui sta andando incontro, fatto che non si realizza quando si cade da 3-4 metri.

Una conseguenza pratica del nostro studio è che, avendo discriminato le bande eosinofile presenti nei soggetti precipitati come vere CB, possiamo affermare che queste rappresentino un esito di una condizione stressante vissuta dal soggetto prima di morire precipitato.

Questo ha dei risvolti pratici importanti dal punto di vista medico legale: le bande di contrazione rappresentano un indice della vitalità del soggetto nel momento precedente la caduta e ciò può avere importanti conseguenze sulla ricostruzione della dinamica di un evento/crimine.

Inoltre, nel caso in cui un soggetto precipitato non vada in contro a morte nell'immediatezza ma sopravviva per qualche ora, potremmo trovare, nelle sezioni istologiche, le bande di contrazione generate dallo stress emotivo, percepito durante la caduta, e fisico, conseguente alle lesioni da impatto la suolo. Se il soggetto non viene soccorso in tempo, mentre è in vita, nelle ore successive all'impatto verranno reclutate, in sede del danno, le cellule del sistema macrofagico di riassorbimento. Nel momento in cui sopraggiunge la morte tali bande di contrazione associate alle cellule macrofagiche, potranno essere testimoni di questa caduta, inizialmente non fatale. Anche questa considerazione può dare una svolta importante nelle

cause, soprattutto in vista di un possibile reato di omissione di soccorso.

Un' altra considerazione che si può fare in merito a queste CB individuate nei soggetti precipitati e morti nell' impatto è che queste lesioni rappresentano un esempio in cui il solo stress emotivo riesce a causare un danno (microscopico) cardiaco. Infatti, nel soggetto precipitato, la morte sopraggiunge immediatamente con l' impatto e le CB sono frutto solo della consapevolezza di essere in procinto di morire. Si distinguono quindi, dalle CB che si possono formare nel soggetto morto lentamente, come le morti agoniche, in cui il soggetto prova sia stress fisico sia emotivo.

Ovviamente questo discorso non vale per il soggetto precipitato che non muore nell' immediatezza, come il caso numero 65/12, in cui l' insufficienza cardio-respiratoria a cui è andata incontro per le lesioni da traumatismo ha sicuramente portato ad uno stress fisico che ha concorso alla formazione delle bande di contrazione.

Abbiamo voluto sottolineare questo aspetto perchè i soggetti precipitati, sotto questo punto di vista, lasciano una traccia evidente dello stress emotivo che provano, cioè le CB, a livello cardiaco. In medicina legale il risvolto pratico di questo concetto riguarda la lucida agonia. *"Se nel tempo che si dispiega tra la lesione e il decesso la persona si trovi in una condizione di "lucidità agonica", essendo in grado di percepire la sua situazione e in particolare l'imminenza della morte, si verifica dunque un "danno da percezione" che si concretizza sia nella sofferenza fisica derivante dalle lesioni, sia nella sofferenza psicologica (agonia) derivante dall'avvertita imminenza dell'exitus. "* (cfr. Cass. n. 26727/2018).

Dal punto di vista civilistico si potrebbero utilizzare le bande di contrazione come indice di stress emotivo verificatosi prima della morte del soggetto. Ovviamente prima di trarre questa conclusione sarà necessario eliminare tutte le fonti esogene di catecolamine e tutte le condizioni che portano a stress fisico, come traumi con conseguente insufficienza cardio-respiratoria, IMA, shock settico etc

Nel caso specifico, i soggetti precipitati si trovano in uno stato di coscienza nel momento in cui la propria dipartita è imminente e non più evitabile. Questa condizione si può riscontrare anche in altri casi tale che la giurisprudenza, in ambito civilistico, ha deciso di esprimersi. L'idea di fondo è che meriti un risarcimento più elevato il soggetto che si trova in una condizione cosciente rispetto a quella incosciente nel momento della propria dipartita. In particolare se l'agonia della vittima non è accompagnata da una "presenza di sé" vigilante, dovrà essere liquidata alla stessa vittima (e, quindi, iure hereditario ai suoi successori) una

Capitolo 11 Discussione

somma corrispondente all'importo previsto dalle tabelle a titolo di invalidità temporanea pro die. Se, invece, la vittima è rimasta vigile negli ultimi momenti di vita, al danno da invalidità temporanea dovrà sommarsi una componente di sofferenza psichica, a cui viene attribuito il nome di "danno catastrofe". Un danno, che per natura, viene definito inestimabile.

Quindi, riguardo questo aspetto, le CB potrebbero rappresentare una lesione che testimonia che in quel soggetto si è verificato uno stress prima di morire.

In conclusione, possiamo affermare che le CB rappresentino un importante reperto, che merita di essere identificato e contestualizzato nella storia personale e clinica dei soggetti, affinché possa essere di aiuto nella pratica clinica.

Riprendendo la domanda del titolo "le bande di contrazione possono essere un marker di danno cardiaco?" La risposta è sì, anche se non si conosce l'importanza di questo danno nel soggetto ancora in vita. Lo stress, quindi, sia fisico che emotivo può determinare dei danni a livello cardiaco che attualmente non siamo in grado di quantificare.

Capitolo 12

Conclusioni

Nonostante questo nostro studio sia soltanto ad una fase iniziale, i risultati ottenuti sono decisamente interessanti.

Su un totale di 52 soggetti, le CB sono state riscontrate in 10 precipitati su 15, 22 soggetti con eccesso di catecolamine su 24 casi totali e in 2 casi carbonizzati (+ 3 artefatti).

Abbiamo compreso la difficoltà nel distinguere una vera CB dagli artefatti ma, valutandone l'estensione, la modalità di decesso e confrontando le lesioni con veri esempi di CB, crediamo di essere riusciti a fare una buona distinzione tra questi due reperti a volte così simili.

Questo studio mirava proprio a cercare di capire se le bande eosinofile presenti in soggetti precipitati potessero rappresentare un artefatto o una vera lesione prodotta dalla scarica di adrenalina pre impatto, in modo da cercare di avere un risvolto pratico a seguito dell'identificazione delle stesse nei preparati istologici dei cuori dei soggetti precipitati.

Si invitano i colleghi medici legali e patologi a cercare di identificare e discriminare le CB dagli artefatti, visti i numerosi riscontri pratici che abbiamo ottenuto. Si consiglia, in caso di reperti dubbi, di procedere con la colorazione tricromica di Mallory, che ne permette una visualizzazione migliore.

I nostri risultati evidenziano la concreta rilevanza che hanno le CB all'interno dell'analisi istopatologica in ambito medico legale, nonostante la sua utilità sia stata messa più volte in dubbio da alcuni autori negli anni passati.

I risultati ottenuti hanno risvolti pratici importanti: in ambito clinico, civilistico e forense.

In ambito clinico abbiamo sottolineato la continua presenza di CB, e quindi di danno cardiaco microscopico, in soggetti che hanno ricevuto la terapia con adrenalina o noradrenalina. Non possiamo affermare se questo si traduca in conseguenze fatali per il soggetto, ma

Capitolo 12 Conclusioni

suggeriamo studi futuri per cercare di comprenderlo, visto l'ampio utilizzo di questi farmaci nella pratica clinica.

In ambito forense abbiamo scoperto che le CB possono essere utilizzate come indice di vitalità del soggetto durante la caduta, ed, eventualmente, per fare diagnosi di morte 'lenta' nei casi in cui la precipitazione non abbia causato una morte immediata.

In ambito civilistico abbiamo sottolineato l'importanza delle bande di contrazione come indice oggettivo di stress emotivo nel contesto della lucida agonia, in soggetti in cui si possa escludere che le CB siano prodotte da catecolamine esogene o provenienti da stress fisico.

Rimangono aperti dei quesiti, che sarebbero interessanti da indagare: i tribunali sono interessati a sapere se lo stress "ha causato" o "contribuito" allo sviluppo di una condizione patologica. In un soggetto con malattie cardiovascolari, è chiaro che un fattore di stress psicologico può contribuire alla precipitazione della sua condizione, ma quello che si potrebbe scoprire è "quanto?" Ci si potrebbe ragionevolmente aspettare che uno stimolo stressante provochi un'aritmia fatale nel paziente "medio" con aritmie? Si può attribuire colpe/causalità/contributo quando il fattore di stress era relativamente lieve ma il paziente era singolarmente vulnerabile? Queste sono alcune domande a cui si potrebbe cercare di trovare una risposta, dal momento che, in ambito legale, le conseguenze pratiche di queste risposte sarebbero enormi.

Appare chiaro dunque come le CB possano essere un utile strumento nelle mani del medico legale nella diagnosi della causa di morte, e nella ricostruzione delle dinamiche degli eventi.

Il nostro lavoro si pone come studio preliminare per un futuro approfondimento, soprattutto in ambito delle terapie con catecolamine, vista la facile reperibilità di casi, o si potrebbe cercare di comprendere se eventuali stati in cui c'è un'inibizione del sistema nervoso da parte di sostanze come THC, metadone, oppioidi o alcol possano interferire con la scarica di adrenalina che si potrebbe liberare in situazioni stressanti, tale da impedire la formazione delle CB.

Per concludere, nonostante questi risvolti pratici importanti, rimangono aperte alcune questioni medico-legali correlate con la bande di contrazione e i soggetti morti per precipitazione che meriterebbero un approfondimento, tuttavia, per ora, possiamo ritenerci molto soddisfatti dei risultati ottenuti.

Bibliografia

- [1] Giuseppe Anastasi, P Castano, S Castorina, Ottavio Cremona, R De Caro, E Gaudio, G Macchiarelli, M Rende, D Ribatti, C Sforza, et al. *Anatomia Umana–Atlante–Volume 1*. EdiErmes, 2014.
- [2] Michael H Ross and Wojciech Pawlina. *Istologia. Testo e Atlante con Elementi di Biologia Cellulare e Molecolare*, Casa Editrice Ambrosiana, 2010.
- [3] G Baroldi. Different types of myocardial necrosis in coronary heart disease: a pathophysiologic review of their functional significance. *American heart journal*, 89(6):742–752, 1975.
- [4] G Baroldi. Anatomy and quantification of myocardial cell death. *Methods and Achievements in Experimental Pathology*, 13:87–113, 1988.
- [5] DJ Hopster, CM Milroy, J Burns, and NB Roberts. Necropsy study of the association between sudden cardiac death, cardiac isoenzymes and contraction band necrosis. *Journal of clinical pathology*, 49(5):403–406, 1996.
- [6] Jenö E Szakacs and Albert Cannon. L-norepinephrine myocarditis. *American journal of clinical pathology*, 30(5):425–434, 1958.
- [7] Giorgio Baroldi, Riccardo Bigi, and Lauro Cortigiani. Ultrasound imaging versus morphopathology in cardiovascular diseases. myocardial cell damage. *Cardiovascular Ultrasound*, 3(1):1–10, 2005.
- [8] AR Morales, G Fine, and RE Taber. Cardiac surgery and myocardial necrosis. *Archives of pathology*, 83(1):71–79, 1967.
- [9] Georg Arnold and Robert Fischer. Myocardial "contraction bands". *Human pathology*, 18(1):99–101, 1987.

Bibliografia

- [10] Erik Ståhl. Screening of myocardial contraction bands: a comparison between two histological staining methods. *Forensic science international*, 45(1-2):151–157, 1990.
- [11] M SARAM. Acellular formation of scars in circulatory disorders in the heart muscle. *Beitrage zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie*, 118(2):275–291, 1957.
- [12] James Caulfield and Bernard Klionsky. Myocardial ischemia and early infarction; an electron microscopic study. *The American Journal of Pathology*, 35(3):489, 1959.
- [13] HM Sommers and RB Jennings. Experimental acute myocardial infarction; histologic and histochemical studies of early myocardial infarcts induced by temporary or permanent occlusion of a coronary artery. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 13:1491–1503, 1964.
- [14] Vittorio Fineschi, L Paglicci Reattelli, and G Baroldi. Coronary artery aneurysms in a young adult: a case of sudden death. a late sequelae of kawasaki disease? *International journal of legal medicine*, 112(2):120–123, 1999.
- [15] M Mari Kannan and S Darlin Quine. Ellagic acid inhibits cardiac arrhythmias, hypertrophy and hyperlipidaemia during myocardial infarction in rats. *Metabolism*, 62(1):52–61, 2013.
- [16] Gordon L Todd, Giorgio Baroldi, Galen M Pieper, Franklin C Clayton, and Robert S Eliot. Experimental catecholamine-induced myocardial necrosis i. morphology, quantification and regional distribution of acute contraction band lesions. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 17(4):317–338, 1985.
- [17] Arnaldo Pinelli, Silvio Trivulzio, Livio Tomasoni, Sergio Brenna, Edgardo Bonacina, and Roberto Accinni. Isoproterenol-induced myocardial infarction in rabbits: Protection by propranolol or labetalol: a proposed non-invasive procedure. *European journal of pharmaceutical sciences*, 23(3):277–285, 2004.
- [18] AG Rose. Catecholamine-induced myocardial damage associated with pheochromocytomas and tetanus. *South African Medical Journal*, 48(31):1285–1289, 1974.

Bibliografia

- [19] Vittorio Fineschi, CV Wetli, M Di Paolo, and G Baroldi. Myocardial necrosis and cocaine. *International journal of legal medicine*, 110(4):193–198, 1997.
- [20] Yi Shao Hua, Ren Liang, Liu Liang, and Guang Zhao Huang. Contraction band necrosis in two ecstasy abusers: a latent lethal lesion associated with ecstasy. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 30(3):295–297, 2009.
- [21] Steven B Karch. Resuscitation-induced myocardial necrosis. catecholamines and defibrillation. *The American journal of forensic medicine and pathology*, 8(1):3–8, 1987.
- [22] DW Lunt and AG Rose. Pathology of the human heart in drowning. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 111(10):939–942, 1987.
- [23] Giorgio Baroldi, G Di Pasquale, Malcolm D Silver, Giuseppe Pinelli, Anna Maria Lusa, and Vittorio Fineschi. Type and extent of myocardial injury related to brain damage and its significance in heart transplantation: a morphometric study. *The Journal of heart and lung transplantation: the official publication of the International Society for Heart Transplantation*, 16(10):994–1000, 1997.
- [24] Frank W Drislane, Martin A Samuels, Harry Kozakewich, Frederick J Schoen, and Robert C Strunk. Myocardial contraction band lesions in patients with fatal asthma: possible neurocardiologic mechanisms. *American Review of Respiratory Disease*, 135(2):498–501, 1987.
- [25] Edward M Manno, Eric A Pfeifer, Gregory D Cascino, Katherine H Noe, and Eelco FM Wijdicks. Cardiac pathology in status epilepticus. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 58(6):954–957, 2005.
- [26] Giorgio Baroldi, Roger E Mittleman, Marina Parolini, Malcom D Silver, and Vittorio Fineschi. Myocardial contraction bands. *International journal of legal medicine*, 115(3):142–151, 2001.
- [27] Christian A Schmittinger, Martin W Dünser, Christian Torgersen, Günter Luckner, Ingo Lorenz, Stefan Schmid, Michael Joannidis, Patrizia Moser, Walter R Hasibeder, Milo

Bibliografia

- Halabi, et al. Histologic pathologies of the myocardium in septic shock: a prospective observational study. *Shock*, 39(4):329–335, 2013.
- [28] SHIN-ICHIRO MORIMOTO, Akihisa Uemura, and Hitoshi Hishida. An autopsy case of brugada syndrome with significant lesions in the sinus node. *Journal of cardiovascular electrophysiology*, 16(3):345–347, 2005.
- [29] Giorgio Baroldi, Malcom D Silver, Renata De Maria, Marina Parolini, Emanuela Turillazzi, and Vittorio Fineschi. Frequency and extent of contraction band necrosis in orthotopically transplanted human hearts. a morphometric study. *International journal of cardiology*, 88(2-3):267–278, 2003.
- [30] Thomas N James, LeRoy Riddick, and Joseph H Embry. Cardiac abnormalities demonstrated postmortem in four cases of accidental electrocution and their potential significance relative to nonfatal electrical injuries of the heart. *American heart journal*, 120(1):143–157, 1990.
- [31] Cristoforo Pomara, Stefano D’Errico, Irene Riezzo, Gian Pio de Cillis, and Vittorio Fineschi. Sudden cardiac death in a child affected by prader-willi syndrome. *International Journal of Legal Medicine*, 119(3):153–157, 2005.
- [32] Johan Duflou, Gemma Nickols, Phil Waite, Robin Griffiths, and Martin Sage. Artefactual contraction band necrosis of the myocardium in fatal air crashes. *Aviation, space, and environmental medicine*, 77(9):944–949, 2006.
- [33] Emanuela Turillazzi, Stefania Bello, Margherita Neri, Irene Riezzo, and Vittorio Fineschi. Colloid cyst of the third ventricle, hypothalamus, and heart: a dangerous link for sudden death. *Diagnostic pathology*, 7(1):1–5, 2012.
- [34] Jerzy Sacha, Jacek Maselko, Andrzej Wester, Zbigniew Szudrowicz, and Wladyslaw Pluta. Left ventricular apical rupture caused by takotsubo cardiomyopathy-comprehensive pathological heart investigation. *Circulation Journal*, 71(6):982–985, 2007.
- [35] Kenneth Nugent, Menfil A Orellana-Barrios, and Dolores Buscemi. Comprehensive histological and immunochemical forensic studies in deaths occurring in custody. *International Scholarly Research Notices*, 2017, 2017.

Bibliografija

- [36] Kars Neven, Vincent JHM van Driel, Aryan Vink, Bastiaan C du Pré, Harry van Wessel, Anna Fütting, Pieter A Doevendans, Fred HM Wittkamp, and René van Es. Characteristics and time course of acute and chronic myocardial lesion formation after electroporation ablation in the porcine model. *Journal of cardiovascular electrophysiology*, 2022.
- [37] Michael Barkagan, Eran Leshem, Ayelet Shapira-Daniels, Jakub Sroubek, Alfred E Buxton, Jeffrey E Saffitz, and Elad Anter. Histopathological characterization of radiofrequency ablation in ventricular scar tissue. *JACC: Clinical Electrophysiology*, 5(8):920–931, 2019.
- [38] Iwao Emura and Hiroyuki Usuda. Biochemical, cytological and histopathological examination of sudden unexpected death in infancy. *Pathology international*, 61(8):469–474, 2011.
- [39] L Yunge, P Bruneval, M Sami Cokay, B Berry, H Peters, R Poulsen, and I Hüttner. Perturbation of the sarcolemmal membrane in isoproterenol-induced myocardial injury of the rat. permeability and freeze-fracture studies in vivo and in vitro. *The American journal of pathology*, 134(1):171, 1989.
- [40] Walter B Cannon. "voodoo" death. *American anthropologist*, 44(2):169–181, 1942.
- [41] Nina Japundžić-Žigon, Olivera Šarenac, Maja Lozić, Marko Vasić, Tatjana Tasić, Dragana Bajić, Vladimir Kanjuh, and David Murphy. Sudden death: Neurogenic causes, prediction and prevention. *European Journal of Preventive Cardiology*, 25(1):29–39, 2018.
- [42] Curt P Richter. 16. on the phenomenon of sudden death in animals and man. In *Psychopathology*, pages 234–242. Harvard University Press, 2013.
- [43] Stephen M Oppenheimer, Adrian Gelb, John P Girvin, and Vladimir C Hachinski. Cardiovascular effects of human insular cortex stimulation. *Neurology*, 42(9):1727–1727, 1992.
- [44] George L Engel. Sudden and rapid death during psychological stress: folklore or folk wisdom? *Annals of internal medicine*, 74(5):771–783, 1971.

Bibliografia

- [45] Ilan S Wittstein. Stress cardiomyopathy: a syndrome of catecholamine-mediated myocardial stunning? *Cellular and molecular neurobiology*, 32(5):847–857, 2012.
- [46] Emily R Duncanson and Shannon M Mackey-Bojack. Histologic examination of the heart in the forensic autopsy. *Academic Forensic Pathology*, 8(3):565–615, 2018.
- [47] Peter Radermacher, Markus Huber-Lang, and Christoph Thiemermann. Catecholamines and the septic heart: Opening pandora’s box? *Shock*, 39(4):404–405, 2013.
- [48] Per Tornvall et al. Epidemiology, pathogenesis, and management of takotsubo syndrome. *Clinical Autonomic Research*, 28(1):53–65, 2018.
- [49] Vittorio Fineschi, Manolis Michalodimitrakis, Stefano D’Errico, Margherita Neri, Cristoforo Pomara, Irene Riezzo, and Emanuela Turillazzi. Insight into stress-induced cardiomyopathy and sudden cardiac death due to stress. a forensic cardio-pathologist point of view. *Forensic science international*, 194(1-3):1–8, 2010.
- [50] Stephen M Oppenheimer, John X Wilson, Collette Guiraudon, and David F Cechetto. Insular cortex stimulation produces lethal cardiac arrhythmias: a mechanism of sudden death? *Brain research*, 550(1):115–121, 1991.
- [51] Stephen M Oppenheimer and David F Cechetto. Cardiac chronotropic organization of the rat insular cortex. *Brain research*, 533(1):66–72, 1990.
- [52] Christian Richard. Stress-related cardiomyopathies. *Annals of intensive care*, 1(1):1–8, 2011.
- [53] Zhili Chen, Poornima Venkat, Don Seyfried, Michael Chopp, Tao Yan, and Jieli Chen. Brain–heart interaction: cardiac complications after stroke. *Circulation research*, 121(4):451–468, 2017.
- [54] Byung-Woo Yoon, Carlos A Morillo, David F Cechetto, and Vladimir Hachinski. Cerebral hemispheric lateralization in cardiac autonomic control. *Archives of neurology*, 54(6):741–744, 1997.
- [55] Vladimir C Hachinski, Stephen M Oppenheimer, John X Wilson, Colette Guiraudon, and David F Cechetto. Asymmetry of sympathetic consequences of experimental stroke. *Archives of Neurology*, 49(7):697–702, 1992.

Bibliografia

- [56] HIROSHI Inoue and DOUGLAS P Zipes. Results of sympathetic denervation in the canine heart: supersensitivity that may be arrhythmogenic. *Circulation*, 75(4):877–887, 1987.
- [57] Martin J Stevens, David M Raffel, Kevin C Allman, Firat Dayanikli, Edward Ficaro, Tracy Sandford, Donald M Wieland, Michael A Pfeifer, and Markus Schwaiger. Cardiac sympathetic dysinnervation in diabetes: implications for enhanced cardiovascular risk. *Circulation*, 98(10):961–968, 1998.
- [58] Giorgio Baroldi, Samuel JM Oliveira, and Malcolm D Silver. Sudden and unexpected death in clinically silent 'chagas' disease. a hypothesis. *International journal of cardiology*, 58(3):263–268, 1997.
- [59] Martin A Samuels. The brain–heart connection. *Circulation*, 116(1):77–84, 2007.
- [60] Miyuki Miura, Hiroaki Kawano, Takeo Yoshida, Yuki Yamagata, Tomoo Nakata, Seiji Koga, Satoshi Ikeda, Kan Kageyama, Kuniko Abe, and Koji Maemura. The histological features of a myocardial biopsy specimen in a patient in the acute phase of reversible catecholamine-induced cardiomyopathy due to pheochromocytoma. *Internal Medicine*, 56(6):665–671, 2017.
- [61] Lucas Liaudet, Belinda Calderari, and Pal Pacher. Pathophysiological mechanisms of catecholamine and cocaine-mediated cardiotoxicity. *Heart failure reviews*, 19(6):815–824, 2014.
- [62] Joseph P Jiang and S Evans Downing. Catecholamine cardiomyopathy: review and analysis of pathogenetic mechanisms. *The Yale journal of biology and medicine*, 63(6):581, 1990.
- [63] PI Johansson and SR Ostrowski. Acute coagulopathy of trauma: balancing progressive catecholamine induced endothelial activation and damage by fluid phase anticoagulation. *Medical hypotheses*, 75(6):564–567, 2010.
- [64] Paari Dominic Swaminathan, Anil Purohit, Thomas J Hund, and Mark E Anderson. Calmodulin-dependent protein kinase ii: linking heart failure and arrhythmias. *Circulation research*, 110(12):1661–1677, 2012.

Bibliografia

- [65] Jelena-Rima Ghadri, Ilan Shor Wittstein, Abhiram Prasad, Scott Sharkey, Keigo Dote, Yoshihiro John Akashi, Victoria Lucia Cammann, Filippo Crea, Leonarda Galiuto, Walter Desmet, et al. International expert consensus document on takotsubo syndrome (part i): clinical characteristics, diagnostic criteria, and pathophysiology. *European heart journal*, 39(22):2032–2046, 2018.
- [66] Yuening Liu, Jingrui Chen, Shayne K Fontes, Erika N Bautista, and Zhaokang Cheng. Physiological and pathological roles of protein kinase a in the heart. *Cardiovascular Research*, 118(2):386–398, 2022.
- [67] Malika Izem-Meziane, Bahia Djerdjouri, Stephanie Rimbaud, Fanny Caffin, Dominique Fortin, Anne Garnier, Vladimir Veksler, Frederic Joubert, and Renee Ventura-Clapier. Catecholamine-induced cardiac mitochondrial dysfunction and mptp opening: protective effect of curcumin. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 302(3):H665–H674, 2012.
- [68] Fiorenzo Conti, Piero Paolo Battaglini, and Edoardo Mora. *Fisiologia medica*. McGraw-Hill, 2010.
- [69] Manuela Graziani, Letizia Antonilli, Anna Rita Togna, Maria Caterina Grassi, Aldo Badiani, and Luciano Saso. Cardiovascular and hepatic toxicity of cocaine: potential beneficial effects of modulators of oxidative stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 2016.
- [70] Jay K Amin, Lei Xiao, David R Pimental, Patrick J Pagano, Krishna Singh, Douglas B Sawyer, and Wilson S Colucci. Reactive oxygen species mediate alpha-adrenergic receptor-stimulated hypertrophy in adult rat ventricular myocytes. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 33(1):131–139, 2001.
- [71] Yun-Ching Fu, Ching-Shiang Chi, Sui-Chu Yin, Betau Hwang, Yung-Tsung Chiu, and Shih-Lan Hsu. Norepinephrine induces apoptosis in neonatal rat cardiomyocytes through a reactive oxygen species–tnf α –caspase signaling pathway. *Cardiovascular research*, 62(3):558–567, 2004.
- [72] Ryuichi Aikawa, Yuko Nitta-Komatsubara, Sumiyo Kudoh, Hiroyuki Takano, Toshio Nagai, Yoshio Yazaki, Ryozo Nagai, and Issei Komuro. Reactive oxygen species induce cardiomyocyte apoptosis partly through tnf- α . *Cytokine*, 18(4):179–183, 2002.

Bibliografia

- [73] Stefania Bello, Margherita Neri, Irene Riezzo, Mohammad Shafie Othman, Emanuela Turillazzi, and Vittorio Fineschi. Cardiac beriberi: morphological findings in two fatal cases. *Diagnostic pathology*, 6(1):1–5, 2011.
- [74] Alberto Bindoli, Maria Pia Rigobello, and Lauro Galzigna. Toxicity of aminochromes. *Toxicology letters*, 48(1):3–20, 1989.
- [75] Bruno K Rodiño-Janeiro, Beatriz Paradela-Dobarro, María Isabel Castiñeiras-Landeira, Sergio Raposeiras-Roubín, José R González-Juanatey, and Ezequiel Alvarez. Current status of nadph oxidase research in cardiovascular pharmacology. *Vascular Health and Risk Management*, 9:401, 2013.
- [76] Nina Kaludercic, Jeanne Mialet-Perez, Nazareno Paolocci, Angelo Parini, and Fabio Di Lisa. Monoamine oxidases as sources of oxidants in the heart. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 73:34–42, 2014.
- [77] Lucia S Yoshida and Shohko Tsunawaki. Expression of nadph oxidases and enhanced h₂o₂-generating activity in human coronary artery endothelial cells upon induction with tumor necrosis factor- α . *International immunopharmacology*, 8(10):1377–1385, 2008.
- [78] Dmitry B Zorov, Magdalena Juhaszova, and Steven J Sollott. Mitochondrial reactive oxygen species (ros) and ros-induced ros release. *Physiological reviews*, 94(3):909–950, 2014.
- [79] Aleksandra Aljakna, Tony Fracasso, and Sara Sabatasso. Molecular tissue changes in early myocardial ischemia: from pathophysiology to the identification of new diagnostic markers. *International journal of legal medicine*, 132(2):425–438, 2018.
- [80] Cristina Mondello, Luigi Cardia, and Elvira Ventura-Spagnolo. Immunohistochemical detection of early myocardial infarction: a systematic review. *International journal of legal medicine*, 131(2):411–421, 2017.
- [81] Satomu Morita, Satoshi Furukawa, and Katsuji Nishi. Classification of contraction bands using immunohistochemistry. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 36(1):23, 2015.
- [82] Elisabetta Bertol. *Elementi di medicina legale*. Monduzzi, 2010.

Bibliografia

- [83] Vittorio Chiodi. *Manuale di Medicina legale*. Vallardi, 1976.
- [84] Dominick DiMaio and Vincent J DiMaio. *Forensic pathology*. CRC press, 2001.
- [85] Lester Adelson. The pathology of homicide. *Springfield, IL: Charles C. Thomas*, pages 188–318, 1974.